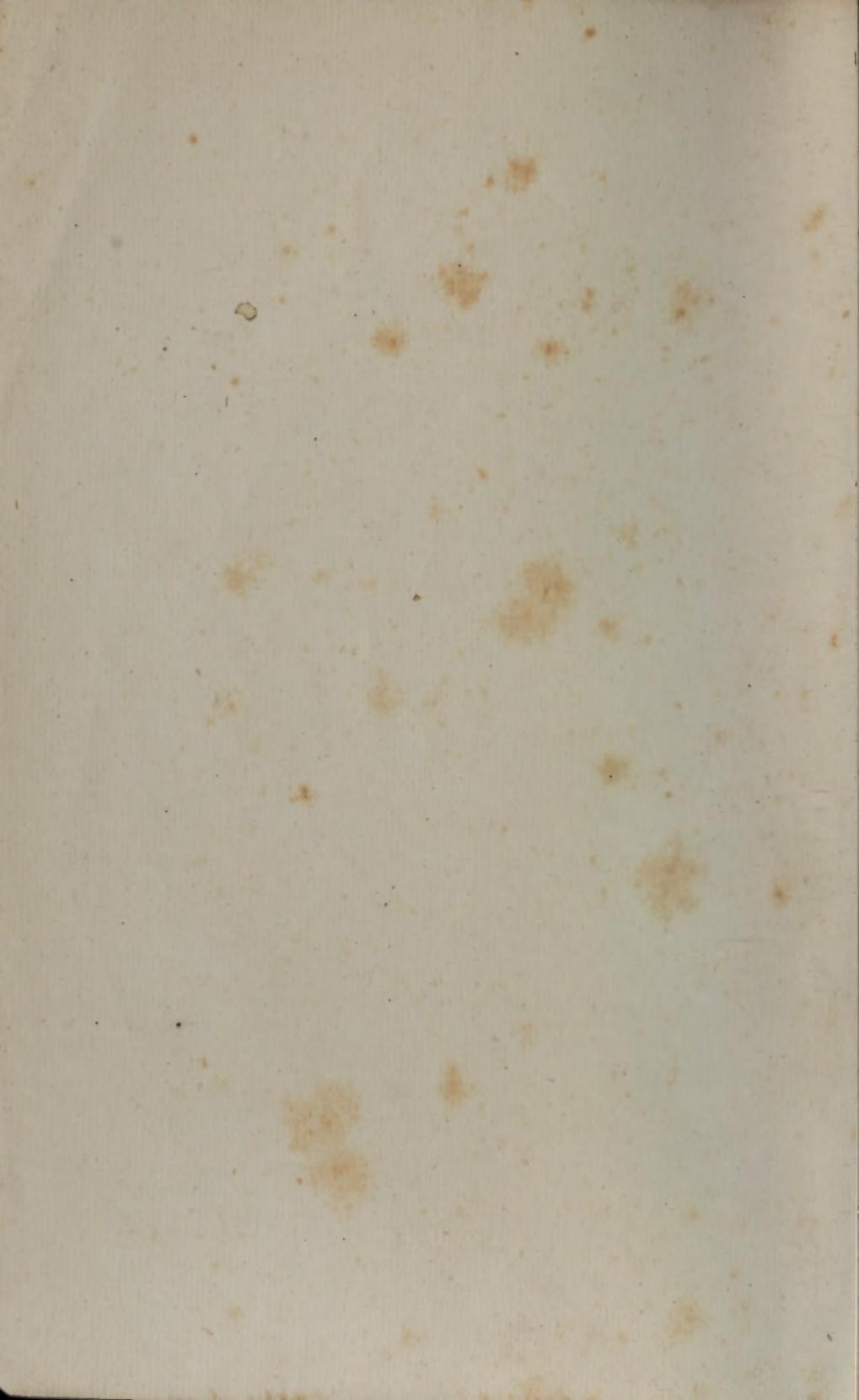


# 生物化学进展

— 第二次全国生物化学学术討論会汇刊 —

《生物化学进展》編輯委員會編

上海科学技术出版社



全国植物标本展览会

(植物标本与实物)

大郎志  
(原生)

同次  
卷柏  
卷柏

麻黄收

茎管土

柳达王

卷柏  
对叶菜

蕨类

薯蓣

白粉化毛毛虫

植物标本

植物标本



6516090

上海科学技

中科院植物所图书馆



S0014702

《生物化学进展》編輯委員會

(按姓名筆划順序)

王應睞\*

鄒承魯

王德寶

張友端

劉培楠

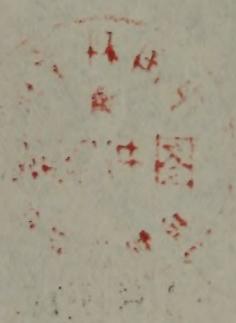
梁植權

沈同

曹天欽

沈昭文

(\*主編)



38.173  
178

# 生物化学进展

—第二次全国生物化学学术讨论会汇刊—

《生物化学进展》编辑委员会 编



6516090

上海科学技术出版社

## 內容提要

本书系就第二次全国生物化学学术討論会的13篇专题报告汇編而成，分別报导了有关生物化学的进展和动态。內容包括：蛋白质化学、酶学、核酸、新陈代谢、病毒生化、肿瘤发病机制、免疫化学，以及放射生物化学等各个分支学科方面的最新成就和技术。

本书可供生化、生理、医学、农学等学科的研究工作者和有关院校师生参考。

（全員參閱《生物化學》）

## 生物化学进展

——第二次全国生物化学学术討論会汇刊——

《生物化学进展》編輯委員會 編

上海科学技术出版社出版（上海瑞金二路450号）

上海市书刊出版业营业許可証出093号

上海大众文化印刷厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本850×1156 1/32 印张7 24/32 排版字数204,000

1965年6月第1版 1965年6月第1次印刷

印数1—3,000

统一书号 13119·641 定价(科七)1.30元

## 前　　言

生物化学是一门发展极为迅速的学科，全世界有关生物化学的学报近百种，文献繁多，浩如烟海。生化工作者要全面地掌握資料，几乎是不可能的。因此，由这门学科各領域的专家把自己熟悉方面的国际进展情况作綜述介紹是非常必要的。全国性的生物化学学术會議每次举行时都邀请一些专家作专题綜合性报告，1960年第一次全国生物化学学术會議后曾汇集刊印，頗受广大讀者的欢迎。这里发表的是1962年年底第二次會議上报告的一些綜合性論文，原先准备在1963年初付印，后来因种种原因，一再推延，到现在才印出。但是我們相信其中绝大部分的資料还是很有用的。

王应睐

1964年11月30日

## 目 录

(1) 蛋白质化学的进展.....	曹天欽	1
(2) 酶学研究中的一些新进展.....	邹承魯	24
(3) 近年来核酸的发展概况.....	王德宝	47
(4) 新陈代謝研究的现状和展望.....	沈昭文	59
(5) 脂质代謝的进展.....	王克勤	74
(6) 抗体的性质及生成机制.....	刘思职	95
(7) 糖类皮质激素对糖、蛋白质及脂肪代謝的 影响.....	刘士豪	111
(8) 結繩組織的生化、病变及慢性过敏反应 .....	王世中	124
(9) 肿瘤发病机制的一些生化研究.....	刘培楠	132
(10) 病毒生化研究的若干問題.....	柳元元	151
(11) 放射生物化学的发展方向.....	沈 同	166
(12) 放射生物化学中有关能量代謝和核酸代謝的 問題.....	陆如山	179
(13) 若干血浆蛋白研究的进展.....	任邦哲 卢义欽	197
附录 第二次全国生物化学学术討論会研究 論文(摘要)題目.....		236

# 蛋白质化学的进展

曹 天 钦

(中国科学院生物化学研究所)

近十年来，蛋白质化学有了飞速的发展，惊人的成果不断涌现。这是世界上各学派苦心钻研、长期积累的结果；是在广泛的基础上推陈出新的结果；是化学、物理学、生物化学等各门学科互相渗透、综合探讨的结果；是层析、X-线衍射、酶的应用等各种研究技术不断革命革新的结果；是人造纤维、多肽抗菌素与激素、国防化学、病毒、免疫、遗传病害等有关的生产和医疗实践与基本理论进展相互促进的结果。

蛋白质化学的各个领域，进展速度并不相同。其中，突破重点、带动全局、对蛋白质化学已经产生或将有深远影响的重大成就，有下列三个方面。

## 一、蛋白质的一级结构

蛋白质是由二十多种、为数成百上千的氨基酸按一定次序首尾相连所形成的生物高分子。全部化学结构、也即是一级结构的测定，在以往被认为是一个极端复杂、几乎无从入手的难题。Sanger 和同工作者利用蛋白水解酶和酸将蛋白质局部水解为碎片、再用纸层析和纸电泳进行分离，以及二硝基氟苯标记测定氨基末端氨基酸等方法，经十年苦功，终于在 1956 年解决了胰岛素全部氨基酸排列次序的问题。其后，Hirs、Moore 和 Stein 采用酶解分肽逐段测定的系统方法，测出核糖核酸酶全部一级结构。这两项工作简洁漂亮，一时模仿者颇不乏人。随着分肽与末端分析技术的进步，解决一个分子量较小的蛋白质所需的时间，越来越短。截至 1962 年秋，氨基酸排列次序全部解决的，还有烟草花叶病毒亚

基 (Schramm、Fraenkel-Conrat 等)、細胞色素 c (Tuppy, Smith 等)、人血紅蛋白 (Braunitzer 等) 等。即将解决的还有木瓜蛋白酶 (Smith 等)、肌紅蛋白 (Edmundson)、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶 (Keil) 等。这些蛋白质或亚基，分子量都在两万多以下。

我們前此<sup>[1,2]</sup> 曾介紹過胰島素、核糖核酸酶和烟草花叶病毒亚基的壹級結構。现将功能上相近或相关的血紅蛋白、肌紅蛋白和細胞色素 c 的氨基酸排列次序列于图 1 和 2。

成年人正常血紅蛋白分子中有两条  $\alpha$  鏈、两条  $\beta$  鏈。 $\alpha$  鏈与  $\beta$  鏈的化学結構很相似，在氨基酸排列次序中，将近一半，即共有 66 处相同。肌紅蛋白的功能一如血紅蛋白，也是氧的載體，但存在于肌肉而非血液之中。分子中只有一条肽鏈。鯨肌紅蛋白与  $\alpha$  鏈和  $\beta$  鏈三者有 22 处相同。从图 1 可以看出，几个主要的脯氨酸、組氨酸和賴氨酸出現的位置相当，如果排齐，则也有一些丙氨酸、白氨酸、酪氨酸和甘氨酸的位置互相符合。考慮到种属的差异<sup>[1,2]</sup> 同种的血紅蛋白与肌紅蛋白之間，壹級結構的相类之处可能更多。

至于另一个只具一条肽鏈的馬心細胞色素 c，則氨基酸排列次序即沒有这类的规律性。它同血紅蛋白的  $\alpha$  或  $\beta$  鏈和肌紅蛋白之間，并无相似之处。这也是可以預期的，因为从功能上看，細胞色素 c 虽然参与体内的氧化还原作用，但它并不象另两种蛋白那样做为氧的載體。

但在找寻結構与功能关系时，有时还有一条捷径，即应用 Ingram 的所謂“指紋法”。例如，有一种貧血病患者的紅血球在缺氧时形成镰刀状，这种病可以遗传到下代。追根到底，病态的血球起因于病态的血紅蛋白分子。为了追踪病态分子与正常分子在化学結構上有无差別，将两种血紅蛋白都用蛋白水解酶在同样条件下切成多肽碎片，比較其“指紋”，即双向电泳及层析图譜(图 3)。相同的点可以不顾，只需比較有差异的肽段的化学結構即可。这样，工作量不知节约多少。找出的“病因”是：在镰刀状紅血球血紅蛋白的  $\beta$  鏈中，第 6 个氨基酸是纈氨酸而不是正常的谷氨酸。在 574 个氨基酸中，有两个这样的置換，即引起如此严重的后果！

α 繼—白蘇脯丙門賴蘇門賴丙丙色甘賴賴丙組丙甘谷酪甘丙谷丙白谷精甲苯白絲苯脯蘇蘇  
 5 10 15 20 25 30 35  
 β 繼組白蘇脯谷谷賴丙賴蘇丙白色甘賴賴門——繼門谷賴甘谷丙白甘精白白賴賴酪色蘇  
 5 10 15 20 25 30 35  
 M 繼丙甘谷色絲谷異白賴？色？白白谷？白賴丙甘組甘賴白蘇白異絲白苯賴絲組脯谷蘇  
 \*  
 α 賴蘇酪苯脯組苯一門白絲組——甘絲丙谷賴賴甘組甘賴賴丙門丙白蘇門丙賴丙組賴  
 40 45 50 55 60 65 70  
 \*  
 β 谷精苯苯谷絲苯甘門白絲蘇脯門丙賴甲甘門脯賴繼賴丙組甘賴賴白甘丙苯絲門甘白丙組白  
 40 45 50 55 60 65 70 75  
 M 白谷賴苯門精苯賴組白賴蘇谷丙谷甲賴丙絲谷門白賴賴組甘異谷賴門組丙白甘丙異門精賴賴  
 \*  
 α 門門甲脯門丙白絲丙內白絲門白組賴白精賴門 蘆賴門苯賴 白白絲組半白白賴蘇白丙丙  
 75 80 85 90 95 100 105 110  
 \*  
 β 門門白賴甘蘇苯丙蘇白絲谷白組半門賴白組賴門 蘆 谷門苯精白白甘門賴白賴半賴白丙組  
 80 85 90 95 100 105 110 115  
 M 甘白組谷白谷谷丙脯蘇丙組絲組丙一賴白苯賴異 蘆 异賴酪？谷組白絲？丙賴異組賴精丙  
 \*  
 α 組白脯 丙 谷 苯 苏 脯 丙 繼組丙絲 白 門 賴 苯 白 丙 級 繼 絲 苏 繼 白 苏 絲 賴 酪 精  
 115 120 125 130 135 140  
 \* \* \* \*  
 β 組苯甘 賴 谷 苯 苏 脯 繼 谷丙丙 酪 谷 賴 賴 繼 丙 甘 繼 丙 門 丙 白 丙 組 賴 酪 組  
 120 125 130 135 140 145  
 M 苏賴組門 門 谷 苯 甘 丙 脯 門 丙 甘 丙 甲 甘 賴 內 白 谷 白 苯 精 賴 門 异 丙 賴 酪 賴 谷 白 白 酪 甘 谷

图1 人血紅蛋白和鯨肌紅蛋白的氨基酸排列次序

α——人血紅蛋白  $\alpha$  鏈    β——人血紅蛋白  $\beta$  鏈    M——鯨肌紅蛋白  
 每个字系氨基酸简称。此中門、苯、甲、异、半分別代表門冬、苯丙、甲硫、  
 异白和半胱氨酸

\*——酰胺。以下同此。

CH<sub>3</sub>CO·甘門賴谷賴甘賴賴異苯賴谷賴半丙谷牛組蘇賴谷賴甘賴組賴蘇甘脯門白組甘白苯  
 5 10 15 20 25 30 35  
 \* \* \* \* \* \*  
 甘精賴蘇甘谷丙脯甘苯苏酪蘇門丙門賴門賴甘異蘇色賴谷谷蘇白甲谷酪白谷門脯賴  
 40 45 50 55 60 65 70  
 酪異賴甘蘇賴甲异苯丙甘异賴賴蘇谷門白异丙酪白賴 賴丙蘇門谷  
 75 80 85 90 95 100

图2 馬心細胞色素 c 的氨基酸排列次序

|| 血紅素輔基聯結處

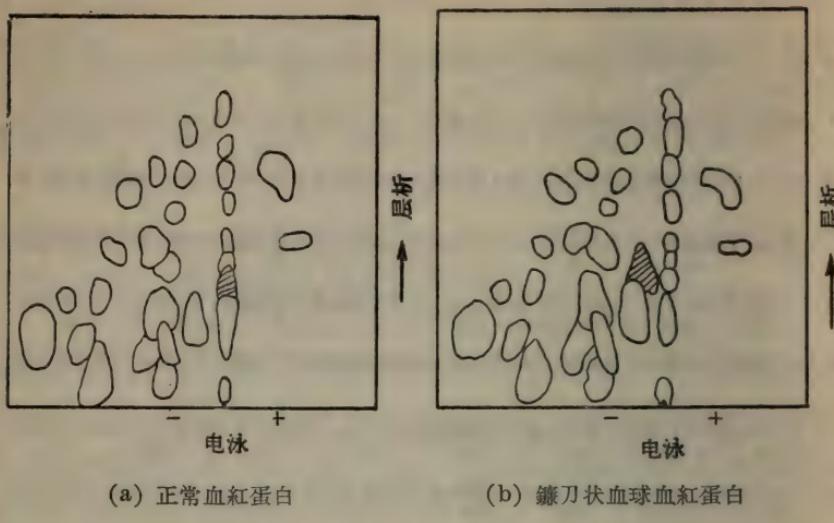


图3 人血紅蛋白的酶解圖譜

(有差异的肽用橫紋标出)

近几年来，发现有越来越多的与正常成年人血紅蛋白略有差异的血紅蛋白。它們很多引起貧血等病变，而且是可遗传的。分子的“病因”，都經指紋法証明：在于血紅蛋白分子的 $\alpha$ 鏈、 $\beta$ 鏈，或两种鏈上，有个別氨基酸被置換。现将已知的几种病态血紅蛋白化学结构变异之处列于表1。

“指紋法”还被用来研究：(1)蛋白质分子的种属差异、即同一种蛋白质在不同动物中可能有的細微的壹級結構的差异。(2)微观差异，即同一动物的同一蛋白质有时可能具有两种甚至几种共存的变种，其間差別可能也仅在于少数氨基酸。(3)遗传变异，例如病毒的核酸經化学处理后，其所引起病毒后代变种的蛋白质部分中局部氨基酸排列次序相应的改变。

仅仅知道蛋白质的壹級結構，自然还不足以了解蛋白质的立体结构和功能；但如欲深入了解结构与功能間的关系，壹級結構实是必需的知識。上面所举的一些例子，已足以說明：这几年来蛋白质壹級結構的测定为探索结构和功能的关系上，打开了一个如何重要的缺口！它們也証明：在解决极其复杂的生物高分子的化学

表1 病态血红蛋白的化学结构

血 红 蛋 白	氨 基 酸 的 置 换
正常 Hb A	$\alpha$ -鏈 1 16 30 57 58 68 纈…賴…谷…甘…組…門…谷…精
Hb I	門
Hb G <sub>Honolulu</sub>	谷*
Hb N	門
Hb M <sub>Boston</sub>	酪
Hb G <sub>Philadelphia</sub>	賴
Hb O <sub>Indonesia</sub>	賴
<hr/>	
Hb A	$\beta$ -鏈 1 6 7 26 63 67 121 146 纈…谷…谷…谷…組…纈…谷…組
Hb S	纈
Hb C	賴
Hb G <sub>San José</sub>	甘
Hb E	賴
Hb M <sub>Saskatoon</sub>	酪
Hb Zurich	精
Hb M <sub>Milwaukee</sub>	谷
Hb D <sub>Punjab</sub> (=D <sub>7</sub> )	谷*
Hb O <sub>Arabia</sub>	賴

结构方面，生物化学的方法呈现了显著的优越性。核酸结构的研究，正沿着类似的道路发展。

## 二、蛋白质的立体结构

在蛋白质分子中，肽链按螺旋状卷曲，在圈与圈之间主要靠氢键维系固定，这是二级结构。螺旋又按一定方式折叠盘曲，是为三级结构。还有更复杂的蛋白质，它们是由许多条盘曲的螺旋肽链，即亚基，按一定方式、借氢键、疏水键或静电吸引堆积而成的，这是四级结构。

在蛋白质立体结构的研究中，一个划时代的贡献是鲸肌红蛋白和马血红蛋白立体结构基本的解决。X-线衍射技术发挥了巨

大作用。Perutz 試圖解決馬血紅蛋白的空間构型已經 25 年，其同工作者 Kendrew 研究鯨肌紅蛋白也将 14 年。通过长期的摸索試探，几年来在技术上又有重金属标记、同晶置换等新的进展，从而先后于 1957、1959 年将两种蛋白质分子的貳、叁級結構初步闡明。

肌紅蛋白分子中有一个血紅素輔基，153 个氨基酸，2600 多个原子。对于 X-綫晶体分析，这是一个极其复杂的体系。在衍射图譜中，間距大于 6 Å 的衍射点有 400 个，大于 2Å 的有 9600 个，每一个都需測其位置、强度，并与标记同晶的衍射点相比。分析的工作异常繁复。我們前此<sup>[1,2]</sup> 曾介紹了 Kendrew 所获得的肌紅蛋白三度空間模型。这是一个不規則的几何形状，肽鏈螺旋盘来盘去，空隙中藏有一个血紅素輔基。截至 1962 年秋，我們所获知的重要細节是：

(1) 肽鏈的 75% 是螺旋，而且是右旋的  $\alpha$ -螺旋，第一次在球状蛋白中直接証实了 Pauling 和 Corey 的  $\alpha$ -螺旋肽鏈結構理論。根据他們的推断，肽鏈的一种最稳定的构型是螺旋状，每隔 3.6 个氨基酸单位，螺旋即上升一圈。螺旋靠鏈內氢鍵維系固定。这个理論自 1951 年提出之后，对蛋白质化学的发展，曾起了很大的促进作用。

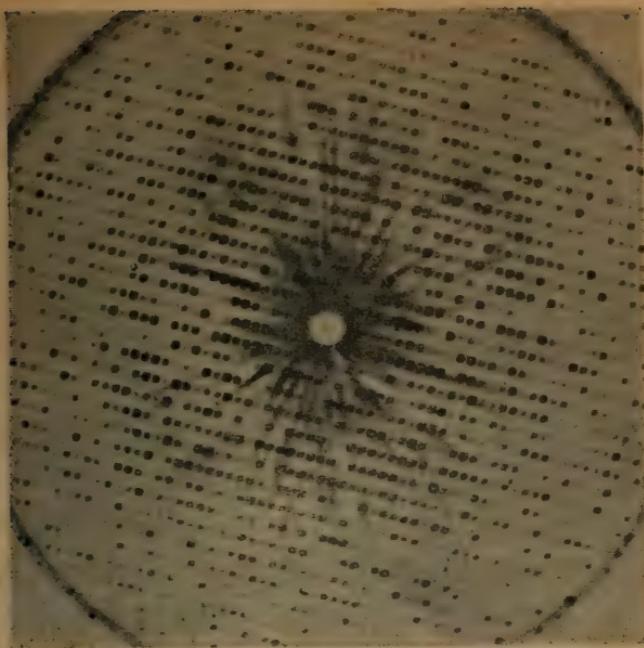
(2) 已能凭借 X-綫衍射数据，准确地或較准确地直接測出或可說“看到”这个分子 153 个氨基酸中几乎每个的位置。其結果与用生化方法所測得肽段局部排列次序的数据可互相參証。图 4 即显示 2 Å 水平分析的結果。(a) 是鯨肌紅蛋白的一张 X-綫衍射图譜，是謎語，(b) 是分析所得的結果，是謎底。

(3) 1.5 Å 水平分析的結果，显示肌紅蛋白是一紧密折叠而不透水的結構。极性側鏈，除了个别完成特殊功能者外，都分布于表面。表面电荷分布均匀。結合水和氢鍵、盐鍵、van der Waal 鍵等結構都清晰可“见”。

几十年来关于蛋白质结构所积累的重要的观念，在肌紅蛋白的晶体分析中，可以說全部得到直接的确証。

## 二、蛋白质的立体结构

7



(a) X-綫衍射圖譜



(b) 立體結構模型

图 4 鲸肌紅蛋白的立體結構

血紅蛋白的晶体分析虽开始在先，但因探索途径，中間走了弯路。其后使用了与研究肌紅蛋白同样的方法，才获得进展。目前分析水平仅达 5.5 Å，但已找出肽鏈盘曲的輪廓。一个惊人的发现即  $\alpha$  鏈与  $\beta$  鏈的空間构型与肌紅蛋白极为相似<sup>[1,2]</sup>。这与壹級结构研究的結果正好互为补充，相得益彰。

对于肌紅蛋白和血紅蛋白的 X-綫晶体分析，为蛋白质空間构型的研究找到了钥匙，打开了新的天地。利用同一个方法，可以准确地測知分子的壹級到肆級結構。这件开辟途径的成就，使得一些迄今悬而未决的蛋白质晶体分析工作，如 Hodgkin 和 Low 关于胰島素、Carlyle 和 Harker 关于核糖核酸酶的研究获得重要启示。胰凝乳蛋白酶原和溶菌酶晶体的分析，也有了初步成果。这一些蛋白质空間结构的闡明，估計将只是工作量与時間的問題。

值得重視的是：对于血紅蛋白和肌紅蛋白的一些崭新的知識——空間结构、化学结构、分子病及其遺传、种属差异、微观差异等等——差不多都在同一时期开花結果，其相互之間及其对今后发展的影响是可以預期的。不同学科从不同角度对这一对象获得的知識，汇为洪流，在蛋白质研究的进展中，构成了动人心弦的一幕。

血紅蛋白分子的四个亚基，两条  $\alpha$  鏈和两条  $\beta$  鏈，在空間中按一四面体方式紧密相接，我們前此曾介紹过这个肆級結構的示意图<sup>[1,2]</sup>。我們也介绍了 X-綫衍射所获得的另一輝煌成果，即烟草花叶病毒 2,300 个亚基如何以螺旋状堆积排列，形成一棒状的大分子。从简单的空間排列原則出发，Crick 和 Watson 曾企图解釋为什么小的病毒多是棒状或接近球状的多面体——这是大量相同亚基围绕核酸排列最简单和占有空間最經濟的方式。他們更推断球状病毒亚基的数目可能是 12 的倍数。近几年来，越来越多的例子証实了这种推断。在蛋白质肆級結構这一重要領域中，X-綫衍射与电子显微鏡两种技术胜利会师。自从 Horne 在制样品时引进了金属“反染法”以来，近两三年利用电子显微鏡揭露了不少較大的蛋白质，特別是病毒蛋白肆級結構的秘密(图5~8)。我們直接

看到了一个何等美丽的、有着简洁规律的微观世界！

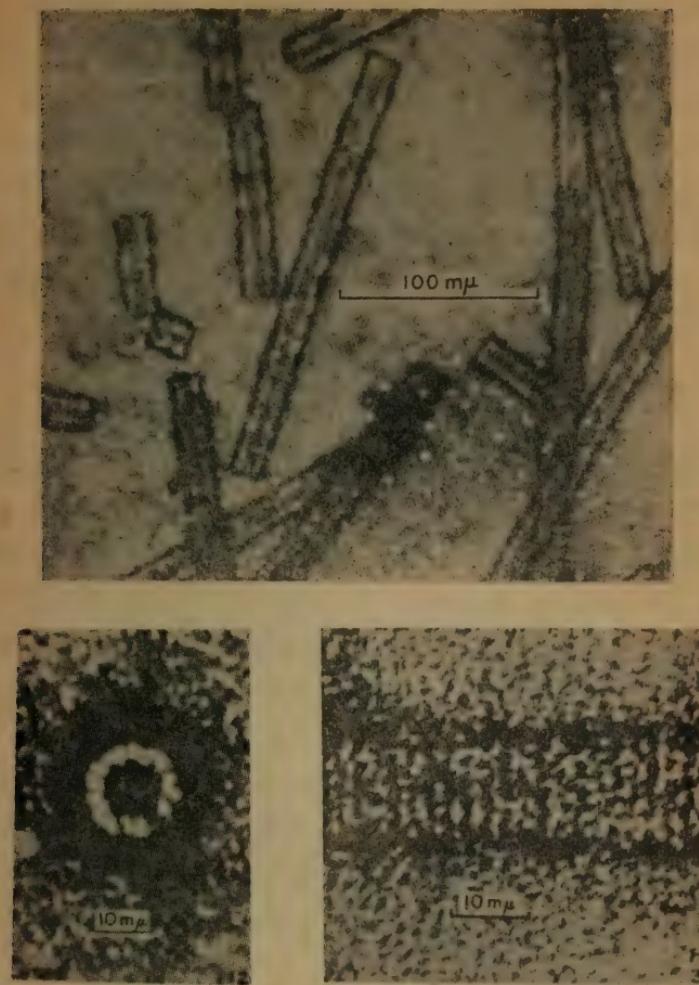


图5 电子显微镜下烟草花叶病毒的螺旋结构  
(注意蛋白亚基的螺旋排列)

一个更为重要、更为艰巨的課題是测定蛋白质在溶液中的构型。更重要，是因为机体組成的大部分是水，一般蛋白质的活动是在水介质中进行的。更艰巨，是因为一在水中，X-綫衍射和电子显微鏡观测便难發揮力量。但如何解决这个难题，几年来也有了重要的苗头。

Linderstrøm-Lang 和 Doty 分別应用重氢交換法和旋光色散法証明在溶液中天然蛋白质具有螺旋构型。这些新技术、結合理論上的新发展，已逐渐趋向定量化。例如最近 Doty 等把旋光色散的研究从可见光推向紫外范围，大大增加了这个“翻新”技术的威力。他們証明了肌紅蛋白中肽鏈的 75% 的右旋  $\alpha$ -螺旋，在晶体溶于水后，仍全部保留。在紫外范围对偏振光色散所呈现的所謂 Cotton 效应，和远紫外吸收光譜，也已被利用來測量肽鏈中的螺旋度。这些工作正在发展，未来几年中，我們將看到它們深远的影响。

### 三、蛋白质分子的局部仍可能具有生物活力

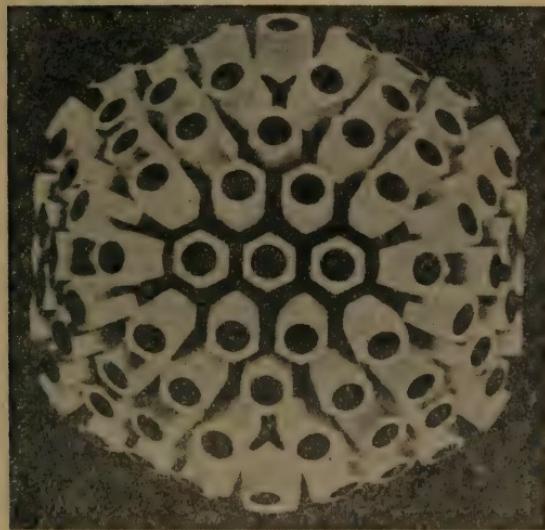
归根到底，每种蛋白质的特异性决定于壹級結構，它为更高級的結構提供了必需的基础。每种蛋白质有特定的壹級結構，一定的空間构型，一定的大小形状，并完成特殊的生化功能。但在机体的某些生化过程中，蛋白质分子的肽鏈需首先局部地按特定方式断裂，然后才呈现生物活力，例如血液凝固时血纤蛋白和凝血酶系复杂的变化，消化道中一系列蛋白质水解酶酶原激活的变化，都属此类。在这些实例中，机体首先所合成的，是无活力的蛋白，只有在生化功能需要时，才通过迅速而微妙的化学与物理化学变化，形成具有活力的新分子。另一方面，人为地、粗暴地将蛋白质壹級結構改变，观察其对功能的影响，寻找具有原活力的碎片，也是研究蛋白质結構功能关系的重要途径。几年来，这两方面都取得了重要的成果。

此中，血液凝固时血纤蛋白的变化，研究得比較深入，可做为这方面的范例。

当动物体受到創傷而流血时，由于血浆中有血纤蛋白原存在，受到凝血酶的作用，立即在伤口附近聚合成胶膜，即血纤蛋白，敷盖伤口，完成了止血的功能。除此而外，血液中还存在另一体系，即血纤蛋白溶酶和其酶原。它的作用是使血纤蛋白溶解。这种与凝血相反的过程有着重要的生理意义，例如参与消炎、創傷愈合、



(a) 电子显微图



(b) 模型

图6 疱疹病毒的四级结构  
(注意空心蛋白亚基按多面体的排列)



图 7 电子显微镜下的蕈状芽孢杆菌噬菌体  
(注意头部蛋白亚基有規則的排列)

溶解血栓、維持血液一定的流动性等。在一般的血浆中，这两种相反的过程保持一动态的平衡。

根据 Bailey, Laki, Blombäck, Hall 等人末端分析、物化研究及电子显微观察的結果，血纤蛋白原轉变为血纤蛋白的机制可基本上图示如下(图 9,10)。

凝血酶的作用是对血纤蛋白原六条肽鏈中的四条自氨基端切下四段短肽。这四段短肽两两相同，即血凝肽 A 和 B，它們的結構现已全部知悉(图 11)。血凝肽 A 释出后，分子的电荷分布有了改变，促进血纤蛋白分子头尾銜接的直線聚合。B 的释出，则促进側向聚集，終至形成三度空間的网状結構。

凝血酶自身受激活以及血纤蛋白溶酶体系复杂的生化变化，也是肽鏈局部断裂的过程。不过已掌握的細节，远不如血纤蛋白体系那样多。



(a) 纤维部分电子显微图



(b) 结构模型

图8 粘液病毒(流感、麻疹、鸡瘟等)的细微结构  
(注意纤维部分蛋白外壳亚基的螺旋排列)

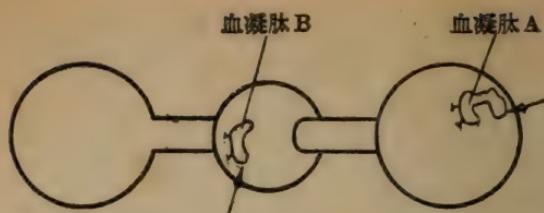
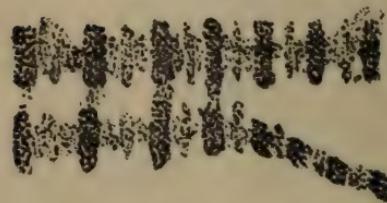
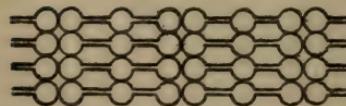


图9 血纤蛋白原结构示意

↑系氢键 ↑指凝血酶作用点



(a) 电子显微镜下的血纤蛋白



(b) 血纤蛋白横纹结构形成机制

图10 血纤蛋白的结构

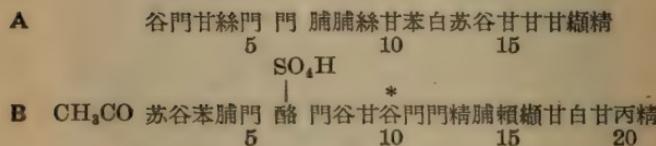


图11 牛血凝肽的化学结构

与此类似，在消化道中，一些蛋白水解酶的激活，也是肽链按特定方式局部断裂的过程。高等动物消化道中的蛋白水解酶原和酶简示如图 12。

利用蛋白质化学的新技术，已经阐明了一些酶原激活的机制。食物进入胃后，刺激分泌胃酸，原来并无水解活力、分子量为

42,000 的胃蛋白酶原受氢离子激活，自氨基端失去九段小肽，变成分子量为 34,000 的活跃的酶。胰脏分泌的许多酶原都是无消化活力的，随食物进入小肠后，受到肠激酶的作用，首先是胰蛋白酶原自氨基端切去一段六肽，分子构型有所改变，形成具有活力的酶。这个活跃的酶又作用于胰凝乳蛋白酶原，自后者分子上切去丝·精·苏·<sup>\*</sup>门两个二肽，使其构型改变，也呈现消化蛋白的活力。同时，胰蛋白酶作用于羧肽酶原，切去多肽碎片，使其激活。这一系列链锁反应进行得秩序井然，激活起的酶将食物中蛋白质成分切得粉碎，被机体吸收后重新合成所需要的蛋白质。

胰蛋白酶原的激活，可做为范例。目前所积累的知识 (Neurath) 示意如图 13。

可惜关于酶原激活前后空间结构的变化所知仍然极少。酶原分子的空间结构如何？酶分子的空间结构差别在那里？为什么酶原没有水解的能力，而激活后的构型使得酶分子呈现了这种活力？这一切仍需要进一步深入研究。

不过回顾几年来对于血液凝固和食物消化这样基本而复杂的生理现象的研究，蛋白质化学所取得的成就实在已很可观。我们一方面对蛋白质化学的新技术在分子水平上解决机制问题的犀利而快慰，另方面不能不对亿万年进化的产物——生物体复杂生理生化过程中，环环相扣、自我调节的无限奥妙感到惊奇！

蛋白质活力碎片的研究，也有重要的突破。对于酶、抗原、抗体、激素结构功能的了解有很大裨益。酶的活力碎片，经证实的有木瓜蛋白酶、核糖核酸酶、胰蛋白酶、烯醇酶、肌肉腺嘌呤核苷三磷酸酶、胃蛋白酶等。Smith 将木瓜蛋白酶用氨肽酶消化，肽链中 180 个氨基酸只剩约 76 个，而原活力不变，这是最突出的例子。Richards 注意到用枯草杆菌酶轻微消化核糖核酸酶时，自氨基端切断一 20 肽，分子只剩下 104 肽。如两部分掺于一体，仍具有原来活力，如去掉已切断的 20 肽，则活力即丧失。这个例子，很耐人寻味。Porter 对于抗体活力碎片的研究，为免疫生化打开了一条新途径。许多异种蛋白在兔血清中引起的抗体，经木瓜酶或胃蛋白

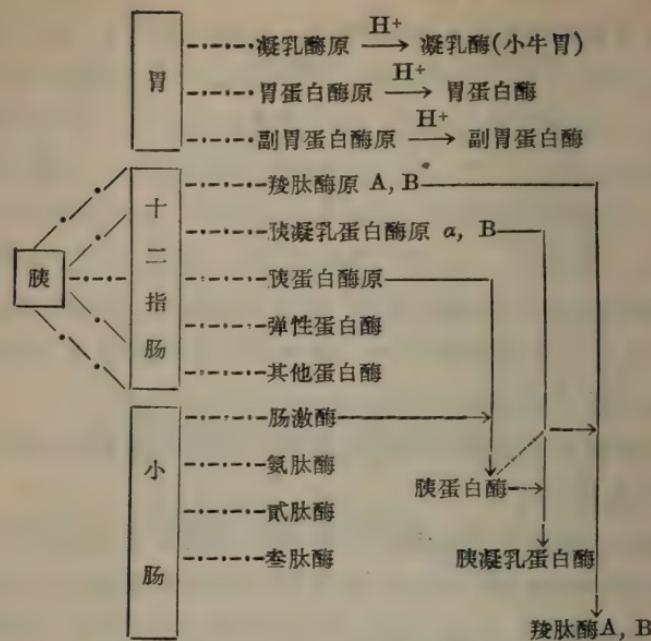


图 12 消化系统中的酶原激活作用

→轉变    ----->激活    - - - 分泌

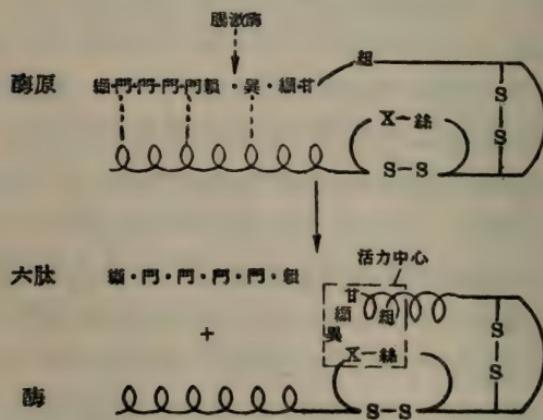


图 13 胰蛋白酶原激活机制示意

酶局部水解后，都得到一个分子量为 80,000 和两个为 50,000 的碎片。50,000 的碎片似乎是由一对二硫键连接起来的，形成一

100,000 的碎片。50,000 的碎片系单价抗体碎片，可与抗原结合而不生沉淀，100,000 的碎片，系两价抗体碎片，可与抗原形成沉淀。阵地已然突破。纵深发展后，将有可能对生物催化和免疫这两种重要的生命现象予以分子水平的說明。

#### 四、蛋白质化学发展的趋势

自然，蛋白质化学的飞跃，不止限于这三个方面，每个方面也不只这些內容，对于內容的估价也仅代表个人的看法。如果从过去和现在瞻望将来，则见仁见智，更大有爭論的余地。未来十几年內，估計蛋白质的研究，可能重点注意下列几个方面：

**1. 对前节所述三項基本問題的繼續深入 和普遍开花** 例如血紅蛋白和肌紅蛋白的空間結構問題，已将全部解决。将来的問題，是以类似的或改进的 X-綫衍射方法研究更多的其他結晶蛋白。更广泛地使用自动記錄和电子計算，将使問題解决的速度加快。从 X-綫衍射結果求得蛋白质分子的壹級結構，将可能与化学方法媲美。另一方面，电子显微鏡的性能可进一步提高，如鉴别率达到 5 Å，制样品的技术再有革新，将有可能真的看到肽鏈螺旋。

用生化方法测定氨基酸排列次序問題，将只是工作量的問題。随着技术的改进，分析所需時間将大为縮減；所能对付的蛋白质分子量也越来越大。重要的提純蛋白质估計大都可能解决。

从需要的迫切与今日已露的苗头看，溶液中构型的测定将会出现一些新技术新方法与更定量的理論。介电性质、螢光光譜及远紫外吸收和差別吸收光譜等已被应用于測定螺旋度等問題。有希望測出蛋白质局部細微結構的变化，为各种活力作用机制找到深入追踪的途径。

分子水平及亚分子水平的研究，将深入生物催化、免疫、肌肉收缩与細胞运动等許多基本的生命现象。

**2. 蛋白质的生物专一性与細微构型的相嵌互补 现象** 生物催化中酶与底物的相互作用、酶的誘导生成、酶与抑制蛋白的相互

作用、抗原抗体的結合、胚胎发育中的誘導現象、核酸在蛋白质生物合成中的所謂样板作用、病毒中蛋白质与核酸組分的相嵌与感染活力(以及做为生化遗传核心問題之一的核酸复制)、聚合作用、絡合作用等等重要的生化現象，其高度的专一性，分析起来，归根到底，都包含一相互作用物质的細微构型相嵌互补的問題。所謂构型，在蛋白质方面包括微观区域中肽鏈的氨基酸排列次序、空間結構、电荷分布等等，是动态的，而非靜止的，可因环境因素而变异。由于相嵌互补，使得一些个别的弱键协同作用，产生特定专一的相互作用，表现为特殊的生化变化或能量传递。一般生物高分子体系的分子間力，和相嵌互补区域有无特殊类型的分子間力，都是未解决的理論課題。測定蛋白质分子局部細微构型及其瞬間的改变，在技术上，今日仍是重大难关。不过，蛋白质生物活力的这些共性——細微結構的相嵌互补，和其特性——催化、免疫、感染……等不同功能与其高度专一性，譬如一个蛋白质为什么是酶、而此酶为什么只催化这一反应而不催化其他反应——是生物科学的重大关键問題。估計十几年內会有不少力量投入，并通过許多学科的协作，取得重大的进展。

**3. 系統地探索具有各种不同生物活力蛋白质的結構与功能、广泛开展各种生物、各种器官組織蛋白体系的研究** 对于肽鏈各級結構及綴合絡合物质和各种不同生物功能間的关系，例如，酶蛋白与催化、抗原抗体与免疫、病毒蛋白与感染、血液蛋白与运输、激素蛋白与代謝控制、毒素蛋白与毒害、肌肉蛋白与收縮、神經蛋白与传导、結構蛋白与保护結繩、种子蛋白与儲藏等等，将随上述基本問題的深入而有飞跃的发展。此外，蛋白质在机体的种族演化和个体演发，即分化、誘導、生长、蜕变、衰老和病变过程中的变异也将会广泛进行研究。

在结构与功能关系方面，酶的研究将继续領先。目前世界上許多蛋白质試驗室以酶分子的結構与功能为研究对象、許多酶試驗室研究酶分子及其活力中心的化学結構、电子結構、空間构型及它們在催化过程中的变化，以求对催化机制的研究能够深入。由于

生物催化在生命现象中的关键位置和酶活力較其他种生物活力更易测定，学术界中注意力这样集中是可以理解的，而且是有益的。未来几年内可以預期会有重要的发展。

对于个体演发、蛋白质誘导分化机制的研究目前刚露苗头，看来这方面的研究在生物科学中将具重要意义，并可能放异彩。至于一般比較研究，则細菌蛋白和海洋动物蛋白将会占有突出的地位。

**4. 蛋白质的抽提、淨化、純度鉴定；分子大小、形状、水合、电荷等数值的測定** 这些是在三十年代和四十年代蛋白质化学的中心問題，而經常与 Sørensen、Svedberg、Tiselius、Adair、Debye 等名字相关連的。五十年代有了进一步的发展，特別是 Martin 和 Syng $\epsilon$  等引进了层析和分子篩等技术。此外，电泳、逆流分溶、超离心沉降、电子显微鏡等方面，也都有了革命与革新。今后随物理学和物理化学的进展，将会向更简单、准确、微量、快速的方向迈进。此中，关于水合作用、分子形状和电荷分布問題的研究，有可能摆脱今日模糊不清的状态而进入确切定量的阶段。

**5. 蛋白质的高級結構** 近年来为了方便，将組織、器官、細胞、細胞器中的蛋白质抽提、淨化、分別进行研究。但个别的肌肉蛋白或其重合体系与能伸縮并改化学能为机体能的肌肉之間、或个别氧化还原酶或其重合体系与能进行氧化磷酸化或光合作用的完整的綫粒体或叶綠体之間，有着很大一段距离。由整体到离体，再由离体到整体，将是下一阶段蛋白质化学重点課題之一。对于亞細胞顆粒的結構和功能的研究，一如蛋白质的結構和功能的研究，是蛋白质化学以及整个生物化学的一个生长点。

在前一阶段中对离体数据的积累和亚显微新技术的发展，将在未来几年中开花結果。亚显微形态与組織化学的观察与分子水平的研究将会合流。

**6. 控制构型、建立系統的定量的蛋白变性理論，指导实践**  
随着测定构型技术的进展，对于蛋白质变性前后构型变化的細节将有較确切的了解，并建立一系統的定量的蛋白质变性理論，取代1931年吳宪所首創而多年来未曾突破的定性的蛋白质变性理論。

在此基础上，将有可能通过环境因素的改变、任意控制蛋白质分子全部或局部的空间构型。这方面的研究，除促进免疫、催化、诱导等重要生化机制的阐明外，对于疫苗、血浆、代血浆、蛋白及酶制剂、蛋白纤维、制革及食品工业某些分支等的一些生产实践问题也将具有重要的指导意义。

**7. 人工合成蛋白、实现恩格斯的预言** 今后十几年内，估计大量的工作仍是合成多肽，主要为多肽激素、抗生素和治癌药物。目前，在合成十几或廿几肽的具有生物活力的激素方面，已取得了重要的成果。世界上也有好几个国家、好几个试验室在尝试合成最小的蛋白质之一的胰岛素。合成的路途已通，肽段的长度已很可观，看来大功告成，期在不久。但目前有机合成的方法仍需革新。随着新的合成方法的出现，吸收氨基酸协聚成高分子化合物的经验，再参考核酸如何影响蛋白质生物合成的知识，应用控制空间构型的一切理论与技术进展的成果，将有可能合成一些结构较胰岛素链更长的其他蛋白质和一些酶的活力碎片、甚至简单的酶或载体。

**8. 蛋白质中氨基酸排列次序的规律性** 蛋白质中氨基酸排列有无规律可寻？这个自三十年代 Bergmann、Niemann、Astbury 以来伤过不少人脑筋的问题，随着一些蛋白质一级结构的阐明，又重新吸引人们的注意。同一个蛋白质的种属差异，同一器官中不同蛋白质一级结构的同异，同一器官同一蛋白质的微观差异，一般蛋白结构中二肽、三肽出现的规律，同一蛋白质分子中肽链各段氨基酸排列次序的规律等等——这些分析比较，对于了解蛋白质一般结构规律、蛋白质生物合成机制、病毒中蛋白质与核酸组分对应关系、核酸中核苷酸的排列次序、蛋白质结构与功能关系等问题，其重要性日益显著。目前重新掀起的规律浪潮，是一种蛋白质化学很自然的发展。未来几年中，一级结构的数据将日益增多，信息论和一些数学工具的应用将日益深入。这一领域中需要的人并不多，而质量必精。理论上正确的概括，对蛋白质化学的发展，影响将是巨大的。

## 五、新观念、新技术、新領域

蛋白质化学的每一次飞跃，都是和技术的革命革新分不开的，只需回顾一下超离心机、电泳器、X-綫衍射、同位素技术、层析、光散射等在蛋白质化学中所起的作用即可体会。未来蛋白质化学发展的速度与规模，在很大程度上将取决于对这方面的注意。今后的趋向，可能包含下列各项內容：

**1. 物理学和数学观念的渗入、新研究領域的开辟** 一些物理学和数学中的观念如量子化、能阶、信息、密碼、控制、反馈、半导体性质等等，在蛋白质结构与功能的研究中，已引起很大波动，使对光合作用、肌肉收缩、生物催化、电离辐射原发反应、蛋白质生物合成等研究进入崭新阶段。这类的渗入，将来还会更多更深。

**2. 各样研究技术的广泛使用和联合使用** 各种技术，包括物理学和物理化学方法（如X-綫衍射、电子显微鏡、超离心、扩散、流动双折射、电致双折射、电泳、表面膜、紅外紫外及可见光譜、螢光光譜、渗透压力、光散射、X-綫散射、粘度、重氢交換、旋光色散、逆流分溶、高压电泳、螢光偏振等等），化学方法（如紙层析、柱层析、标记同位素、末端分析、个别基团测定等等）以及生物化学方法（如酶解、酶作用动力学方法、微生物测定、免疫沉淀、免疫电泳等等）的广泛使用和联合使用，将与日俱增，这些技术本身也在日日改进。例如电子显微鏡正朝高鉴别率、高穿透率两个方向发展，我們将有希望看到蛋白质分子的一些細节，看到活的細胞中的蛋白质。旋光色散与差別光譜正向短紫外方向发展，我們将更加了解蛋白质的螺旋結構。技术革新的总的趋向是高速度化、自动化、超微量化、多样化。

**3. 新技术的找寻和使用** 利用順磁共振測定自由基、利用核磁共振測定空間构型与水合作用，是比较新近的发展。应当看到，随着现代物理学和化学的发展，还会出现更多的新領域、新技术、新方法。蛋白质的研究，一如生物科学中其他的边缘学科（参见文献3），應該逐渐摆脱今日等待物理学和化学、物理学方法和化学方

法以及物理学家和化学家渗入的被动状态，而主动地、有意識地、系統地迎接其冲击。

## 六、結語

十年前，Sanger 首次测出胰島素 B 鏈的氨基酸排列次序，是一項重要的成就。对于一項研究工作贊賞的最好标志是对它的模仿。十年来蛋白质化学的发展深受其影响。1957 年 Kendrew 首次测出肌紅蛋白的立体結構；“看”到了一个蛋白质分子的廬山真面目。这些成就虽是重要的里程碑，但还不过是万里长征中的头几里。

蛋白质化学是一门典型的邊緣学科，它的成长是化学、物理学、高分子科学、数学等許多学科渗入生物科学的結果。自然科学与技术科学很多新成就，必会不断地在蛋白质化学这一邊緣領域中結出丰碩的果实。

但与此相反的过程，也同样值得重視。蛋白质化学的成长，也必会影响其他学科的发展。此中，对于生物科学各学科的影响显而易见，不必贅述。Sanger 和 Moore、Stein 等人的工作，丰富了有机化学；生物高分子化学結構的測定有了新的途径。为研究蛋白质而发展起来的紙层析、界面电泳、超离心沉降等技术，其应用早已渗入了多少学科。許多学科及其技术，在解决蛋白质問題时，得到充实提高。例如为了解决蛋白质的空間結構，X-綫衍射的分析方法和螺旋結構衍射理論进入了一个新的阶段。为了解决蛋白质及其体系的問題开始引入的金属投影、金属反染法等技术在电子显微学中的应用，早已超出了蛋白质的范围。为了解决在溶液中蛋白质构型問題而对旋光色散技术与螺旋結構色散理論的新发展，将是物理化学的一部分。生物高分子与人工合成高分子的研究，更是孿生姊妹。两者的技术很多相同，溶液的理論互相參証。这几年来，許多第一流的工作都融合了双方面的成就。从結構的原則上看，由于蛋白质分子的功能复杂多样、奧妙无穷，人工合成高分子的研究，可能从蛋白质的结构与性质中参悟出不少道

理。

生命是蛋白质与核酸两类生物高分子存在的形式，生命现象奥妙深邃，许多规律等待发掘探索。前几节中所提出的许许多多问题，已经解决的是极个别的，绝大多数还在等待解决；对物理学家、化学家、生物学家、生物化学家、生物物理学家、数学家、工程技术专家提出了强烈的挑战。不同水平的学科或同一水平不同的学科，其近缘与远缘杂交，将会出现多少新的成果！蛋白质的结构与功能关系是生命奥秘中最基本的奥秘之一，在揭开这个奥秘的长征途中，还会出现更多的、更醒目的里程碑。

### 参 考 文 献

- [1] 曹天钦：蛋白质的结构与功能。科学通报，1960，第15期，460～467。
- [2] 曹天钦：蛋白质的结构与功能。第一次全国生化学术会议汇刊，科学出版社，1962，8～51。
- [3] 曹天钦、徐京华、李载平、张友尚：对于生物物理学的一些看法。科学通报，1959，第12期，387～390。

# 酶学研究中的一些新进展

邹承鲁

(中国科学院生物化学研究所)

酶学是生化学科中的最重要部门之一，某些科学家甚至认为酶学是生物化学的中心。就 1958 年一个时期内世界上四种主要生化期刊发表论文统计，有关酶的论文约占半数<sup>[1]</sup>。由于在生命现象中所包含的化学变化，除个别例外，几乎全部都是在酶的催化作用下进行的，因此，生物学家为了更好地阐明构成生命现象的生物体的一系列活动的本质，就必须对酶的性质、功能和作用规律给予极大的注意。另一方面，酶的惊人的催化效率和高度的作用专一性，在已知的催化剂当中是无与伦比的。这就使许多化学家，特别是物理化学家深信了解酶的催化机制将会对建立有普遍意义的催化理论，以及由此设计并在工业上应用新型的、高效率的催化剂作出重要的贡献。

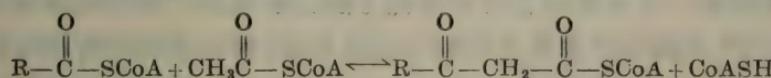
在医药、农牧业和工业实践上，也日益对酶的实际应用方面提出了更多的新课题。例如怎样根据在发病过程中酶活力和性质的改变，来帮助对某些疾病的早期诊断；怎样根据不同机体的代谢类型，特别是酶的分布和性质的不同，来设计合理的药物治疗方法；在农业上设计并应用新的杀虫药；在发生药物中毒时，如何根据药物影响酶作用的机制来设法解毒；在治疗学上高度纯化的酶制剂的直接应用；以及在工业上如何使用酶制剂来进行催化，以加速完成一定的化学反应等，近年来在这些方面都取得了许多成就。仅日本一国，每年在纺织和食品两个工业部门就使用了上万吨的酶制剂<sup>[2]</sup>。

由于我们目前对酶的知识还十分有限，可以断言，在酶的实际应用方面还存在着有待于开发的广阔的新天地。

作为边缘学科中的一个部分，酶学研究受其他有关学科发展的冲击很大，近年来发展也特别快。在基本研究方面，不仅是旧有的领域不断在充实和成长，还出现了许多新的方向。在过去仅仅是毫无基础的猜测，现在已成为具体的研究课题，其中有些并已初具轮廓；过去认为是无法入手的问题，随着新技术新方法的建立，也已陆续提上日程，开始着手解决。但是也应该指出，虽然进展很快，但对于许多重大问题而言，工作还不过刚刚开始，摆在前面的任务将更为艰巨。本文将就酶学基本研究中的若干方面近几年来的比较重要的新进展，作一概括的介绍。

## 一、一般酶学

**分类命名** 酶学领域中的一件大事是关于酶的分类和命名的系统建议<sup>[3]</sup>。在这个建议中，主要根据 Hofmann-Ostenhof 的分类法，以 1958 年 Dixon 和 Webb 所收集的、已有较充分证据证实其存在的六百多种酶为基础，分别加以修改和补充，将已知的约七百种酶分成氧化还原、转换、水解、裂解、异构及合成六大类，对酶和辅酶提出了系统的命名原则的建议，并对所有已知的酶都给予了系统的命名。酶的命名，过去的习惯是由发现者决定，其中有不少是很不合理的，而在同一种酶同时由不同工作者发现时，又常因命名不同造成混乱。例如肠激酶(enterokinase)和肌激酶(myokinase)，从字面上了解，象是仅仅来源不同而作用方式极其相似的两种酶，但实际上它们的作用方式迥然不同。又如除了对脂代谢较熟悉的少数工作者外，也很难想到酮硫解酶(ketothiolase)和乙酰辅酶 A 转酰基酶(acetyl CoA transacylase)都代表催化下列反应的同一种酶(式中以 CoASH 代表辅酶 A)：



这一套命名原则，虽然也还有一些缺点，但经过实际使用的考验，经过不断的修改与补充，将会大大澄清目前的混乱局面。这一原

則已經引起了广泛的反应，看来，个别具体名詞虽然还一定会有所修正和补充，但这一原則很可能在短期内为广大的生化学界承认和使用。

**分离提純** 在酶学研究中，酶的分离和提純本身并不是目的，但却是研究其他問題重要的，有时甚至是必需的前提。在沒有获得高度純淨的酶制剂以前，对于其性质、专一性、动力学和生物功能等研究都或多或少受到一些限制，而其结构和更詳尽的作用机制的研究則几乎不可能进行。过去曾有人认为对于酶的提純工作是經驗多于理論，艺术多于科学。應該承认，到现在也还没有从根本上改变这种状况。虽然一些古典的方法如盐析、有机溶剂分步沉淀和吸附等目前仍然广泛使用。但是近年来也有一些新的发展，其中最主要的无疑是离子交換柱层析<sup>[4]</sup>以及利用底物或竞争性抑制剂对酶的专一性的保护作用，即利用当酶与底物或竞争性抑制剂結合后稳定性的显著增加，用一些比較粗暴的方法（如加热等）除去蛋白类杂质的方法。在柱层析中，特別是用纤维素离子交換剂或葡聚糖衍生物进行分离，获得了最显著的成功。这类物质对蛋白质的吸附容量大，而又能在較温和的条件下进行洗脫，已經在酶分离提純上获得了日益广泛的应用。从近几年的生化文献看来，在多数新的提純方法中都使用了纤维素离子交換剂进行柱层析分离，它已經开始取得和盐析等古典方法同样重要的位置。

已經逐漸有許多事實說明酶和底物或竞争性抑制剂結合后常能引起酶稳定性、分子空間結構以及带电性质的改变。例如 D-氨基酸氧化酶的稳定程度在竞争性抑制剂 o-甲基苯甲酸存在时即大大增加，此时用加热除去杂蛋白，可以得到很好的提純效果。而利用这一特点将酶在加及不加底物时連續进行两次离子交換层析則應該是一个有普遍意义的提純方法。最近利用磷酸化酶与底物的結合，用淀粉吸附以及用糖元溶液洗脫，可以很簡便地获得磷酸化酶結晶<sup>[5]</sup>。在这一方面进行系統的研究，可能是酶的提純工作的重要发展方向<sup>[6]</sup>。

**微观不均一性** 早已知道在机体中同一种酶有时以不同形式

存在，而且都具有完全相同或极其相似的酶活力，但其物理化学性质却有细微的不同，表明在它们的化学结构上，也很可能有细微的不同。例如许多动物组织中都有不只一种电泳性质不同而酶性质极其相似的乳酸脱氢酶（称为同工酶）<sup>[7]</sup>。不仅如此，将不同组织的乳酸脱氢酶进行电泳的结果，发现每一种组织都有其一定的同功酶电泳图型。尤其有兴趣的是不同类动物的相应组织比同一动物的不同组织有更为类似的同工酶电泳图型。最近研究精子乳酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶的同工酶图型结果指出，同工酶的存在，不是由于某些组织中含有不同类型细胞的结果<sup>[8]</sup>。同工酶的研究不仅在其生物意义上是饶有兴趣的，对于解决蛋白质的结构与功能关系这样重要的问题，也将是有用的材料；并且由于在不同病理状态下血液同工酶的电泳图型常发生一定的改变，这一事实可能在医学实践上有重要的意义，而在临床诊断上可能比单纯测定某些酶活力改变的结果更为可靠。

**活力测定** 近年来在活力测定方面的趋势是向准确、快速、灵敏和自动化发展。除其中某些部分将结合动力学的研究介绍外，在这里应该首先提到的是活力测定的自动化。随着记录式物理仪器的日趋完善，常用分光光度、pH 滴定等方法进行的酶反应过程的测定，已经逐渐开始从手工操作向自动记录过渡。以振动铂电极代替瓦氏呼吸计定氧的方法不仅比瓦氏呼吸计远为灵敏，并且可以用记录仪器进行。使用自记方法的优点是它不仅比手工操作远为方便，更重要的是能测定较快速的反应，并且避免了在反应过程中读数的主观误差，所得结果因此更为可靠。在临床检验上，常常需要对大量样品进行活力测定，因此就要求对加样、混合、停止反应、读数等整个操作过程的自动化。这一方面近年来也有一些尝试<sup>[9]</sup>。

在提高测定方法灵敏度方面，利用反应物和产物萤光性质的差异进行测定是一类重要的方法。这类方法除了用在脱氢酶的活力测定外，近年来也在水解酶方面开始使用，一个突出的例子是利用萤光素的  $\beta$ -半乳糖苷作为底物，甚至可以对单个的  $\beta$ -半乳糖

苷酶分子进行活力测定<sup>[10]</sup>。高灵敏度的活力测定方法，虽然不够十分准确，但对于細胞学的研究将是十分有用的。

**酶分析法<sup>[11]</sup>** 由于酶的作用一般都是高度专一的，用酶作为分析試剂，可以具有普通分析方法所不易达到的选择性。例如利用葡萄糖氧化酶的高度专一性来测定葡萄糖，可以不受其他还原糖存在的干扰。利用某些酶对輔酶，金属离子或其他活化剂的专一需要，也可以对这些物质进行測定，如用异檸檬酸脫氢酶，可以准确測定0.01毫升血浆中的鎂含量。此外也可以根据酶活力受抑制剂的影响来测定抑制剂，用胆碱酯酶測定某些有机磷毒剂，就是这方面的一个例子。

## 二、生物功能

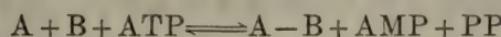
**物质代謝中的酶系統** 近几十年来，中間代謝一直是生物化学研究中最繁榮的部門之一。随着几类重要物质如碳水化物、蛋白质和脂肪等的降解代謝主要途径的逐步闡明，人們的注意中心逐渐移向以下几个方面：(1)重要物质的生物合成途径，特別是蛋白质和核酸的生物合成。(2)虽然不同生物体对于一些重要物质降解代謝的主要途径十分类似，例如葡萄糖在酵母中发酵产生酒精和在肌肉中酵解生成乳酸的中間过程几乎是完全相同的，但有时对同一物质在不同机体中或甚至在同一机体中却存在着不只一种代謝途径。闡明这些不同代謝途径的中間过程，它們的相对重要性，不同机体代謝类型的不同和其生活环境的关系等，也成为人們注意的問題。(3)代謝的調節机制。这三个方面都和酶的研究有密切关系。在合成代謝和比較代謝的研究中，无疑将繼續发现大量新的酶，这些酶的提純和性质的研究对于确切了解它們的生物功能，它們在有关代謝途径中的地位，将是不可缺少的。而在代謝調節研究中也需要有关酶系的作用特性以及它們与激素、維生素和微量元素关系的知識。

比較合成代謝和降解代謝的特点，可以看到降解代謝过程多半是放能反应，結構比較复杂的分子，首先經過一系列的降解过程

轉变成小分子物质(其中多数是有机酸)。这些反应絕大多数都是放能反应，并且能量变化較小，其中仅一小部分为生物体利用。催化这些降解反应的酶多数分子量較小，比較稳定，作用也常比較简单。由这些降解反应所产生的有机酸最后完全氧化生成二氧化碳和水并释放大量能量为生物体利用。催化这些氧化还原和能量轉移反应的酶，多数分子量較大，較不稳定，并且常和細胞內一定的細胞器緊密結合，較难着手研究。

过去曾經有人认为，既然所有的酶促反应在理論上都是可逆的，可以設想合成代謝和降解代謝通过同一途径进行，不过是在不同的环境条件下，改变了反应的平衡点，使总的反应趋向于合成而已。这一設想沒有能得到具体實驗証据的支持。不仅是象糖元水解生成葡萄糖这样的反应，每生成一克分子葡萄糖自由能降低的数值为 4.2 大卡，平衡极端趋向于水解，逆反应在实际上几乎完全不进行。即使是象糖元磷酸解生成葡萄糖-1-磷酸这样的反应，相应的自由能变化数值极小，正逆反应在一定条件下都能順利进行。但是已經有証据說明，机体内糖元合成的主要方式不是通过上述系統的逆反应而是通过完全不同的途径<sup>[12]</sup>。研究蛋白质、核酸、脂类<sup>[13]</sup>等物质生物合成的結果也說明在机体内合成不是降解的簡單逆轉。

合成代謝过程中的反应多数需要能量，能量直接或間接通过核苷三磷酸，特別是腺三磷的分解供給。例如多糖和磷脂的合成即是利用核苷三磷酸的能量，通过至少三个轉換酶的作用进行的。近年来又絡續发现了一类酶，直接利用核苷三磷酸(特別是腺三磷，ATP)分解的能量进行合成作用，而腺三磷本身則水解生成腺二磷(ADP)和无机磷酸(Pi)或腺一磷(AMP)和焦磷酸(PP)，如：

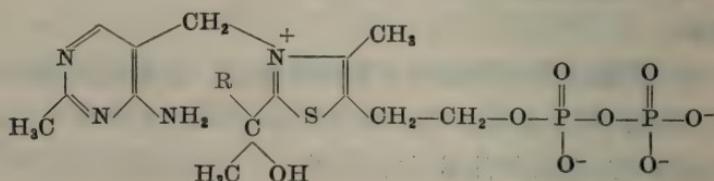


前者如从谷氨酸和氨生成谷氨酰胺的反应，而輔酶 A 的酰化則是后一类反应的例子。这一类酶在 1953 年 Hofmann-Ostenhof 最

早提出其分类法的时候还知道得很少，在1958年Dixon和Webb发表已知的酶的总表时也仅有二十几个例子，而在1961年国际生化学会的报告<sup>[3]</sup>中就已經成为六大类酶中的一类，其总数还在日益增加。此类酶促反应的特点之一是反应包含三个底物分子，催化这些反应的酶作用显然比較复杂。这些酶多数还没有很好提純，它們的性质和作用特点，将是頗为重要的研究課題。

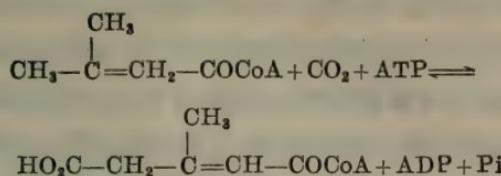
**酶和維生素的关系** 由于需要量极少的維生素的缺乏即能对生物体产生深远的影响，可以想见維生素不是生物体的能量来源，而很可能是其催化系統中的一部分。对于某些B族維生素如烟酸、核黃素等而言，几乎是作为維生素和作为酶的輔酶或輔基而同时发现的。迄今为止，我們也还是对B族維生素和酶系統的关系知道得比較清楚，近年来在这方面也有一些較重要的发展。

虽然早已知道硫胺素的焦磷酸衍生物是某些脱羧酶的輔基，它在脱羧反应过程中所起的作用，则仅有間接的証据說明其噻唑环是直接起反应的部位，并且在反应过程中似有所謂“活性乙醛”的生成。最近 Holzer 等<sup>[4]</sup>利用酵母脱羧酶和<sup>14</sup>C-丙酮酸的作用，分离得到了“活性乙醛”并証明其結構为：

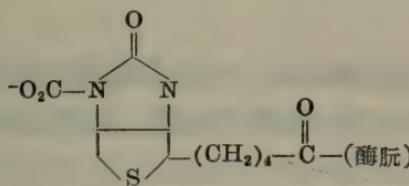


丙酮酸在脱羧过程中首先和輔基結合（上式，R=—CO<sub>2</sub>H），脱去羧基生成“活性乙醛”（上式，R=—H），然后再和另一分子丙酮酸交換生成游离的乙醛分子，和輔基結合的丙酮酸再繼續进行反应。作为轉酮酶的輔基，其作用方式也是类似的。

另一个和羧基代謝有关的維生素是生物素，最近 Lynen 等和 Ochoa 等在几个提純了的羧化酶和轉羧基酶中都发现生物素作为酶的輔基，如  $\beta$ -甲基巴豆酰羧化酶：



使用  $^{14}\text{CO}_2$ , 分离輔基并鉴定結構的實驗結果, 說明在反應過程中,  $\text{CO}_2$  首先羧化生物素分子, Lynen 認為, 羧基和生物素分子結合的方式是<sup>[16]</sup>:



在另一方面, Wakil 和 Waite<sup>[16]</sup> 用  $^{14}\text{CO}_2$  研究乙酰輔酶 A 羧化酶時却发现  $^{14}\text{C}$  集中在生物素分子中咪唑烷酮部分的脲基碳原子。他們認為生物素輔基在作用中咪唑烷酮部分开环, 失去羧基, 在反應過程中可能經過二氨基硫茂衍生物的中間形式。

維生素 B<sub>12</sub> 虽然是一个較新的維生素, 但它作为輔酶而存在的形式, 已經得到初步闡明。它的衍生物是催化某些异构反应如谷氨酸异构化成为  $\beta$ -甲基门冬氨酸的酶反应中的輔酶<sup>[17]</sup>。

在B族維生素之中, 叶酸和单碳基团轉移的关系, 近年来也引起相当的注意, 并取得一定成果<sup>[18]</sup>。但是, 即使对于某些維生素的輔酶和輔基功能已經有比較确切的資料, 也还不能断言这些維生素的功能就仅限于此。磷酸吡哆醛和氨基酸代謝的密切关系是早已熟知了的, 它是催化許多氨基酸轉氨、脫羧等反应的酶的輔基, 但近来却意外地发现一个和以上这些作用看起来并无关系的功能, 即它同样也是磷酸化酶的輔基。并且在磷酸化酶中和在轉氨酶中一样<sup>[19]</sup>, 磷酸吡哆醛都是通过賴氨酸的  $\epsilon$ -氨基和酶 脲连接。它在淀粉磷酸解生成葡萄糖-1-磷酸的可逆反应中究竟起什么

作用，现在还不清楚，也可能它的作用仅在于維持酶分子的一定空間构型，而和它参与氨基酸代謝的作用机制頗为不同。

在B族以外的維生素中，虽然对于有些維生素生理功能的某些方面，例如維生素A和夜盲的关系，維生素K和凝血的关系等，已經知道得比較詳細，但从这些維生素缺乏时所引起的影响看来，它們的功能可能远不仅限于这些方面。除了作为視色素的一个重要組成部分之外，近年来的研究已經指出，維生素A和粘多糖生物合成的密切关系，生物体合成硫酸酯的重要中間物，腺嘌呤核苷-3'-磷酸-5'-磷硫酸本身合成的酶系統中，維生素A可能是一个必要的輔助因子。

对于其他脂溶性維生素，特別是維生素E和K与呼吸鏈和氧化磷酸化酶系統的关系，近年来也做了許多工作，这些将在下面詳細闡述。

**酶和激素的关系** 虽然大多数激素的生理功能还是比较明确的，但是它們通过怎样的机制来实现这些生理功能，却知道得比維生素更少。由于激素一般在极低的浓度水平之下即能产生作用，例如血中胰島素的浓度仅在 $10^{-11}M$ 左右，它們和酶的关系，即它們是否通过影响生物体催化系統的作用以發揮其功能，就成为极其引人注意的問題。在这一方面，仅在近几年以来，才取得了一些初步的結果。

甲状腺素能促进生物体内的氧化过程是早已知道的事实，从化学结构上看来，它是酪氨酸的衍生物，含有酚类羥基。和其他一些酚类衍生物类似，它对氧化磷酸化具有解偶联作用，使底物氧化加速，而在此过程中所释放的能量則部分变成热量散失以致利用效率降低。甲状腺素的生理功能，即其对于基础代謝的調節作用，可以根据这些现象得到部分說明<sup>[20]</sup>。

近年来研究增血糖素和腎上腺素作用的結果，說明它們增血糖的机制在于促进了磷酸化酶的活力。上面已經提到，虽然磷酸化酶的作用是可逆的，但是由于在机体内，葡萄糖-1-磷酸的浓度远低于无机磷酸浓度，它主要的功能仍是在于催化糖元的分解，因

此磷酸化酶活力提高主要的結果，仍是糖元的分解。增血糖素和腎上腺素增进磷酸化酶活力的机制頗為复杂。簡單地說，是由于它們在一定酶系統的作用下，促使腺一磷轉變成为腺苷-3',5'-環磷酸酯，而后者又在一定条件下使磷酸化酶活化的緣故<sup>[21]</sup>。

有时虽然已經知道某一激素主要影响哪些酶系統，但分子水平的研究結果与細胞，特別是整体水平的結果之間的关系却并不清楚。例如已經知道雌性激素能显著提高烟酰胺核苷酸轉氢酶的活力而对于某些脫氢酶則有强烈的抑制作用，但这些激素对性器官代謝的影响却不明显<sup>[22]</sup>。这些結果都还远不能說明性激素对于整体动物的作用。

从极少量激素即能对机体产生巨大影响看来，它們很可能通过影响酶活力而产生作用。虽然有些激素作用比較复杂，作用点可能不止一处，其中有些也許是直接，有些也許仅是間接影响到酶的作用。这方面已經取得的知識很少，对于絕大多数激素的作用点还几乎一无所知，然而无论对于理論上或医药实践上，这方面的研究都是十分重要的。

**呼吸鏈和氧化磷酸化** 能量的轉換是生命活动的主要問題之一。对于依賴食物为生的机体而言，通过一系列的降解氧化等反应，自食物中取得能量的过程，包含了一系列酶的作用。在这些酶之中，特別是和氧化和能量轉換直接有关的酶系統，即呼吸鏈和氧化磷酸化酶系統与細胞內以脂質-蛋白組成的片层結構密切結合，不仅十分重要，而又較难着手进行，多少年来一直是生化工作者注意的中心之一。近年来，由于发现在光合作用中的能量轉換过程，包括电子传递和磷酸化过程，与呼吸鏈和氧化磷酸化非常相似<sup>[23]</sup>，說明在自养与异养两大类机体中能量轉換过程的基本一致性，更加强有力地指出这一問題的研究对于闡明生命现象的本质具有头等重要的意义。

Green 对于呼吸鏈和氧化磷酸化研究的现状和前景作了非常乐观的估計<sup>[24]</sup>，他认为在三、五年内可以看到这一問題的基本解决。虽然應該承认近年来在这一問題上的确取得了重大的进展，

但是 Green 乐观估計的事实根据并不能完全令人信服。

呼吸鏈多酶系統的組成，以及在底物氧化過程中的氢或電子传递途径远在二十年以前已經初具輪廓，然而一些重要細節迄今尚不完全清楚。脂类物质与呼吸鏈的关系近年来成为大家注意的中心問題之一。电子显微鏡的观察已能清楚說明，作为呼吸鏈活力集中的部位，綫粒体的結構也和生物体一般能量轉換部位的結構相似<sup>[24]</sup>，是由蛋白-脂質-蛋白所組成的片层結構。不仅如此，从除去脂質即引起片层結構的破坏和呼吸鏈活力的丧失看来，脂質在維持片层結構的完整性，和呼吸鏈正常工作中的功能是十分明显的<sup>[24]</sup>。但是也應該指出，能影响呼吸鏈多酶系統結構的因素很多，加入某一物质能增进呼吸鏈活力的体外實驗，不一定即表明呼吸鏈对该物质有专一的需要，更不一定能表明該物质在体内的功能即是如此。近年来虽然有不少关于細胞色素类物质和磷脂或所謂結構蛋白能“专一地”結合的報告，但都还缺乏在綫粒体上的結合方式即是这样的确切証据。在另一方面，某些脂溶性物质是否通过其本身的氧化还原直接参与氢或電子传递，却成为爭論的中心。前几年关于維生素E参与呼吸鏈作用的假說未能为深入一步的工作所証实，但維生素K和新近发现在生物体中广泛存在的遍醌（ubiquinone）是否参与電子传递的爭論都正方兴未艾。这些物质，在呼吸鏈多酶系統中虽然能被氧化和还原<sup>[25,26]</sup>，然而从遍醌为底物所还原的速度仅为底物氧化速度的 1/3 看來<sup>[27]</sup>，遍醌是否直接通过本身氧化还原参与呼吸作用还有待于进一步的研究。关于維生素K在这方面的功能也缺乏令人信服的証據。

綫粒体中的氧化和磷酸化反应的紧密偶联是早已知道的，近来发现的加入 ATP 能使呼吸鏈上一些氧化还原反应逆轉的现象，更加說明了这一偶联的密切程度<sup>[28]</sup>。在一定条件下，加入琥珀酸能使烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)还原的现象，也和呼吸鏈上電子传递的逆轉有关。这一事实也更进一步証实早些时关于琥珀酸和通过 NAD 氧化的底物共同經由同一段呼吸鏈的結論<sup>[29]</sup>。

呼吸鏈的組成、電子传递途径和氧化磷酸化的中間过程等問

題的最終解决，仍将在很大程度上依赖于分别将组成这一多酶系统的各个酶分离提纯。在这方面，近年来也取得了不少进展，然而值得指出的是经过提纯的酶制剂是否仍然具有生物活力，却常常没有得到足够的注意。对于这些在机体中原来和线粒体结构紧密结合的酶而言，是否仍能和有关的多酶系统连接，则更是判断提纯了的酶制剂是否具有生物活性的一个重要指标。例如前几年在我国及美国实验室几乎同时提纯的琥珀酸脱氢酶<sup>[30,31]</sup>，近来的深入研究指出，仅在抽提时有琥珀酸存在条件下所得到的酶才能和多酶系统连接<sup>[32]</sup>。又如早些年从心肌抽提纯制的 NADH-细胞色素 c 还原酶经证明是矫作物后<sup>[33]</sup>，近年来不同工作者又从心肌纯制了至少三个能催化 NADH 氧化的酶，这些酶的性质各不相同，究竟哪一个最接近于酶在线粒体存在的状态，则有待于进一步的研究。美国的 Green 等和日本的奥貫等都声称提纯了细胞色素 b 和 c<sub>1</sub>，但从实验结果看来，至少所得到的细胞色素 b 是不具有生物活力的。对于细胞色素氧化酶的提纯也做了不少工作，但这个酶究竟包含一种或两种细胞色素(a 或 a 及 a<sub>s</sub>)，还存在着争论。

在抽提和纯化某些脱氢酶和细胞色素的同时，也有一些工作者，如 Green 等<sup>[24]</sup>，将呼吸链粗分为几个段落，Green 称之为“复合物”。这些复合物虽然已经比完整呼吸链简单得多，但仍如其字面含义所指出的，是颇为复杂的。常包括好几种组成成分如脱氢酶，中间递体，细胞色素等。Green 学派还声称将这些复合物重新组合，可以恢复完整呼吸链的活力<sup>[34]</sup>。令人费解的是，Green 学派虽然充分认识重组实验对于检查经过抽提纯化的，呼吸链某一组成成分生物活力的重要性，却极少发表他们声称提纯了的某些细胞色素(例如细胞色素 b)的重组检查结果。

虽然氧化磷酸化的作用机制和中间过程还不清楚，但是尝试分离催化某些中间步骤的酶或其他中间因子的工作已经做了不少。其中较有成绩的应该是 Lehninger 关于 ATP-ADP 交换酶的分离<sup>[35]</sup>，Racker 实验室对于 2,4-二硝基酚敏感的腺三磷酶的分离<sup>[36]</sup>，以及 Smith 和 Hansen 关于所谓“偶联因子”的初步

报告<sup>[37]</sup>。但它们和氧化磷酸化中间过程有无关系，关系如何？还需要做许多工作。尽管不同学者对于氧化磷酸化中间过程的看法不同，但大都同意在最终形成 ATP 之前，先生成含磷或不含磷的高能中间物，尝试分离这种高能中间物，吸引了许多人的注意，最近对于这类高能中间物的化学组成，高能键的性质等，都做了不少探讨和猜测。虽然高能中间物不只一个，也很可能有不只一种类型的高能中间物，其中之一很可能与 NAD 有密切关系<sup>[38]</sup>。

**細胞酶学** 在过去的一个长时期以内，大量研究酶的生物功能的工作，都企图把根据从机体内分离出来的个别酶的知识，和整个细胞的代谢活动联系起来。这样的尝试虽然也取得了不少成果，却也遭遇到不少困难。这些困难，在发现了不同的酶在细胞内不同细胞器之间的分布不同之后，部分得到了解答。看来不仅酶在细胞内的分布远不是均匀的，某些酶高度集中于细胞的某些部分，甚至对于小分子的代谢中间物和辅酶等，在细胞内也有所谓局部化的问题。更进一步的研究指出，即使是氢离子浓度，在细胞内的不同部分也可能颇不相同，最多可以差到一个 pH 单位以上。这就帮助我们了解为什么有些酶虽然米氏常数值颇大，最适 pH 也与整个细胞匀浆的 pH 值颇为不同，然而在细胞内仍然可以充分发挥其作用的原因。近年来的研究指出，即使过去在使用差离心法分离细胞不同组分时所通称之为“清液”的部分，也还远不是唯一的，也还存在着所谓网状结构。有些工作者甚至认为所有的酶在细胞内都和一定的细胞结构有关，而这正是细胞代谢调节机制的重要的一部分<sup>[39,40]</sup>。

在整个细胞，甚至整个组织在完整的功能状态之下，研究其酶的活动，无疑是十分重要的。在这一方面，Chance 的微萤光光谱光度分析<sup>[41]</sup>，研究细胞甚至某些组织中 NAD(P) 的氧化还原以及与酶结合状态是一个重要的发展。

### 三、催化机制

作为催化剂，酶具有催化效率高和选择性强的特点。就一些

可比的反应計算，酶的催化效率比一些简单的催化剂高約在一千萬倍至十萬亿倍之間(分子比)。显然深入研究酶催化作用的特点及其机制不仅对于进一步了解生命现象十分重要，对于建立全面的催化理論也是必不可少的。

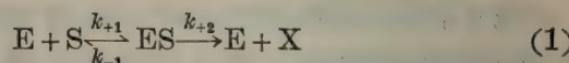
**化学结构及其与活性的关系** 酶的化学结构，归根結蒂，是全面了解其催化机制的最基本資料。在这一方面，近年来也有一些重要进展。继核糖核酸酶之后，胰凝乳蛋白酶和細胞色素c等結構也已接近全部解决。从目前研究蛋白結構的技术水平看来，解决一个不太大的蛋白质的全部結構，并不十分困难。但是解决化学结构仅是研究作用机制的一个方面，后者将是远为艰巨的任务。

是否酶的全部化学結構均为其表现活性所必需是一个重要問題。用蛋白水解酶处理某些酶以除去其部分肽鏈的結果似乎說明对于許多酶而言，都不需要其全部肽鏈結構。一个突出的例子是木瓜蛋白經用氨肽酶处理以除去全部肽鏈的一大半以后，仍保有全部活力。最近用合成酶分子中肽段一部分的方法来研究其結構与活力关系的工作亦已开始进行，結果也說明对于核糖核酸酶而言，表现活力不需要其全部結構<sup>[42]</sup>。研究用化学方法改变酶蛋白側鏈基团的化学性质对酶活性影响也是一个常用的方法。过去这一类工作虽然很多，但由于所用改变側鏈基团性质的方法不够专一，能与不只一种側鏈基团进行反应，常常难以获得肯定的結論。最近由于建立了側鏈必需基团改变与酶活力下降的定量关系<sup>[43,44]</sup>，根据这些定量关系检查实验結果，就可以作出更为确切的判断。用这些关系重新检查文献上已有的一些数据的結果，說明尽管在一个酶分子中某种側鏈基团的总数可以很大，但其中的必需基团数常小于3。例如在淀粉酶的40个氨基中仅有2个为其表现活力所必需<sup>[44]</sup>。综合以上用蛋白酶降解及改变側鏈基团两类方法的結果看来，酶分子虽然較大，結構也頗复杂，但是，真正为其表现惊人的催化活性，可能仅需要其全部分子結構中的一部分，甚至可能仅是一小部分。

根据这些定量关系，系統地用改变酶蛋白分子中側鏈功能基团的方法，應該有可能对任何一个酶究竟需要其分子中哪些基团来表现其催化活性，取得比較全面的了解。但是也應該指出，做到这一步所包含的工作量是相当可观的，因此，即使对于象核糖核酸酶这样分子量不大，而全部化学结构又已基本清楚的酶，也还没有做到这一点。进一步探求新的，比較专一而又易于測定的，改变側鏈基团的試剂，仍然具有重要的意义。

**反应动力学** 这方面的研究开始得到足够的重視，應該說还不过是最近十年的事。如果十年以前还允許用米氏常数来代表酶与底物結合紧密的程度，还允許把不是典型的競爭性抑制都看做是非競爭性抑制，而今天在一般文献中已經很少看到这样的不够严谨的例子。在酶学研究中更广泛地用动力学方法处理有关反应速度的数据以及从动力学观点来解释和說明酶反应过程，就有助于使酶学成为一门更为严谨的科学。比較 Sumner 和 Myrback 的巨著初版和再版中討論动力学的篇幅就可以看出目前的发展趋势正是如此。第一本关于酶作用动力学专著的出现<sup>[45]</sup>，正好說明这门学科已經在其发展阶段上从童年进入青壮年时期了。

經 Briggs 和 Haldane 修正的 Michaelis 和 Menton 公式基于这样的假定：即酶(E)首先和底物(S)結合生成所謂米氏絡合物(ES)，此一絡合物分解生成产物(X)并重新释放出游离的酶。



近年来的发展主要在于：(一)較式(1)更为复杂的反应系统的动力学关系；(二)对影响酶反应速度因素的定量处理；(三)反应中間过程的速度常数的测定。

当酶所催化的反应包含不只一种底物分子时，其动力学关系就远較式(1)复杂。事实上絕大多数的酶促反应都包含两种底物，因此其重要性是十分显然的。Theorell 等关于醇脫氢酶动力学的研究<sup>[46]</sup>是这一方面較为完整的一个例子。在这样的系統中，酶与底物結合的三元絡合物常是反应系統的关键性中間物（例如在醇

脫氢酶系統中是：酶-NAD-乙醇絡合物）。在許多情形下，三元絡合物的生成似遵循一定的順序。在另一方面，即使當酶所催化的反應只包含一種底物時，在反應過程中也可能經過不只一個酶底物中間物的階段。這種系統的動力學分析雖然並不十分複雜，但也給某些實驗所測定的動力學常數的物理意義解釋，帶來一定的困難。

雖然不同類型抑制劑影響酶反應速度的定量關係是早已知道的，僅在約十年以前 Dixon<sup>[47]</sup> 和 Laidler<sup>[45]</sup> 等才應用相似的方法處理酶反應速度的 pH 效應得到比較滿意的結果。他們根據酶分子中一定的解離基團直接參與酶和底物的結合，或其催化過程的理論不僅能定量地說明通常觀察到的 pH 影響酶反應速度的鐘罩形曲線，還對判斷這些活性中心基團性質提供了一個有用的方法。另一方面介質的介電常數對酶反應速度的影響也開始受到注意。這方面的理論研究還不够成熟，但對說明活性中心解離基團性質及反應中間過程，也有一定幫助。

在酶作用中間過程之中每一步驟的反應速度常數或平衡常數的測定對於深入說明酶作用機制十分重要。例如，對米氏絡合物解離常數 [ $k_{-1}/k_{+1}$ , 式(1)] 的測定，就可以根據改變底物結構以及不同因素對這一數值的影響，判斷酶和底物結合的方式。對個別中間步驟反應速度常數的測定，也同樣幫助了解酶分子中的那些基團參與控制這些中間反應。但是對於這些數值的直接測定，目前還缺少可以普遍適用的方法。由於酶的高催化效率，酶直接參與反應的中間步驟，反應速度極高，不易準確測定。早些年 Roughton 所設計的流管法，可以測定毫秒 ( $10^{-3}$  秒) 時間內的變化，解決了一些問題，但對於多數情形還不够快速。近年由 Eigen 等發展起來的松弛時譜 (relaxation spectra) 技術<sup>[48]</sup> 最高可以測定毫微秒 ( $10^{-9}$  秒) 范圍的變化，已經在酶動力學中有所應用，將來還可能起更大的作用。在特殊情況下，利用產物抑制<sup>[49]</sup>，或平衡時同位素參入的方法<sup>[50]</sup>，也可以測定一些不是特別快速的中間反應速度常數。

此外，一般动力学工作大多仅限于反应初速度，或当反应处于所謂恒态时之速度研究。为了要得到对于整个反应过程均能适用的一般公式，就必须解有关反应中間物变化的联立微分方程，而这也仅在极简单的情形下才是可能的。近年来也开始用电子計算机求此种联立微分方程的近似解，以及求在作用机制較为复杂时的反应速度常数，但应用还不广泛<sup>[51]</sup>。最近用統計方法研究动力学规律也开始有所嘗試<sup>[52]</sup>。

**活性中心** 不久前曾对作用机制方面工作的发展情况进行过重点总结<sup>[53]</sup>，因此这里只需要在某些方面略为加以补充。总的形势变化不大，活性中心性质和反应中間过程仍然是这方面研究的中心問題，两年前还仅仅是初露端倪的反应过程中酶分子构型变化的研究，现在已經开始取得了一些有价值的成绩。

在活性中心性质方面，近年来大量的工作仍然指出了半胱氨酸、組氨酸和絲氨酸残基的重要性。象絲氨酸羟基这样一个在化学上不能算是很活泼的基团，居然在一些水解酶、变位酶和轉換酶的活性中心部分都有它的位置，其重要性远远超过性质十分相似的苏氨酸羟基，并且許多作用不同的酶在活性中心絲氨酸附近的肽鏈结构，又常常比較类似，必然在酶的催化特性中，有其深刻的意义。

研究活性中心化学性质时，利用比較专一的，效率极高的不可逆抑制剂和活性中心基团的結合，是一个常用的方法。例如通过二异丙磷酰氟对乙酰胆碱酯酶的抑制研究，說明絲氨酸羟基为酶活性中心的一部分。近来也有一些工作者企图从合成一些与底物结构有某些类似之处的抑制剂，寻找专一的和高效率的抑制剂<sup>[54,55]</sup>，显然也是很好的想法。

抑制剂的研究除了理論上的兴趣外，对于設計寻找新的药物，阐明毒物中毒机制并由此探索解毒方法，都有重要的实际意义。

由于酶的作用特点，酶和底物常常是通过一些比較不稳固的鍵而結合的；酶和輔酶的結合也是如此。但近来发现，有时可以改变酶和底物或輔基結合的鍵的性质，使其成为稳定，即使将酶完全

部水解成为氨基酸时也不被破坏。例如将醛缩酶或轉醛酶与磷酸二羥丙酮的复合物<sup>[56]</sup>，以及磷酸化酶或轉氨酶与磷酸吡哆醛的复合物<sup>[19]</sup>，用  $\text{NaBH}_4$  还原，然后全水解寻找相应的氨基酸衍生物的結果，都說明底物或輔基都是連接在賴氨酸的  $\epsilon$ -氨基上。

除此以外，通过紫外差吸收光譜的研究，也指出色氨酸和酪氨酸残基在一些酶作用中的重要性。

**反应中間过程** 在酶反应过程中，酶与底物或底物分子的一部分通过共价鏈結合生成酶中間物的事实，在不同类型的酶当中发现了許多新的例子，例如在某些蛋白水解酶或酯酶的作用过程中生成酶的酰化中間物，在糖苷酶作用过程中生成酶的糖苷化物，催化羧化反应的酶生成酶的羧化物<sup>[15,16]</sup>，脱羧酶和轉酮酶反应过程中所生成的“活性乙醛”和“活性羥乙醛”<sup>[14]</sup>，以及醛缩酶和轉醛酶和磷酸二羥丙酮所生成的复合物<sup>[56]</sup> 等。看来这可能是酶催化过程中一个比較普遍的现象。

在氧化还原酶的作用中，多数包含一对电子的传递，如果这一对电子的轉換不是在一步反应中一次完成而是分两步进行的，则在反应过程中应有所謂半醌的中間物生成。虽然在生物氧化过程中生成半醌中間物的学說远在三十年代即已由 Michaelis 提出，但是在近年来应用了順磁共振波譜技术之后，才不仅对简单的以异咯嗪核苷酸为輔基的酶系統，并且对复杂的线粒体酶系統作用过程中生成半醌提出了确切有力的証据。值得注意的是在烟酰胺核苷酸的还原过程中虽然也包含一对电子的变化，但似并无半醌的生成，此时电子轉換似通过氢負离子传递进行<sup>[57]</sup>。如果这两类在生物氧化中极为重要的物质的氧化还原机制的根本不同得以証实，那么，它們两者之間相互作用时的电子轉換机制，就是一个极为重要的問題。

酶与底物之間，底物与底物之間，甚至酶与酶之間以怎样的方式相互作用进行能量传递，是十分重要的理論問題。量子化学的观念和方法在酶学中的应用虽然还不十分普遍，但肯定有广阔的发展前景<sup>[58]</sup>。

底物分子与酶分子結合的直接實驗証據最早是 Keilin 所觀察到的微量过氧化氢即引起过氧化物酶吸收光譜的变化。此后說明二者結合的實驗証據日益增多，但大都集中在研究酶对底物分子的影响或底物对酶分子的一小部分(例如輔基)的影响。近几年的研究指出当 NADH 与酶结合后，不仅其熒光强度显著增加，并且螢光高峰向短波方向移动，底物的存在更加强了这一效应。在另一方面，底物的存在也能对整个酶分子的高級結構产生明显的影响。例如底物或 NAD 直接影响谷氨酸脫氢酶的解离聚合，而酶的解离聚合又直接影响到酶的活力；NAD 影响醇脫氢酶的旋光性质的結果也說明酶分子螺旋构型的改变。这些都是底物影响酶分子空間构型的直接証據。應該指出，虽然底物一般对酶分子有保护作用，能增进其稳定性是早已熟知的事实，但底物影响酶分子高級結構的直接實驗証據，却主要是近些年的发展。在这方面饒有兴趣的是肌酸激酶的旋光性质虽然不因底物 ATP 或肌酸单独存在而有改变，当二者共同存在反应得以进行时，却受到明显的影响<sup>[59]</sup>。肌酸激酶在反应过程中构型的变化还反映在其免疫性质的改变上。这些結果，如經进一步的研究証实具有普遍性的意义，将对酶催化机制的研究产生深远的影响。

**酶为什么是酶** 多年以来，酶学研究都在企图回答这样一个問題，即为什么酶会具有这样高的催化效率？在酶分子中寻找具有特殊催化性能的組成成分的尝试，虽然給这一难题提供了一些线索，但却远远不能解决問題。例如，尽管已經知道血紅素能催化过氧化氢的分解，异咯嗪和血紅素都能催化某些氧化还原反应，磷酸吡哆醛是轉氨反应的催化剂，而酯鍵的水解則为咪唑衍生物所催化等等，但是，将这些简单催化剂和相应的酶进行比較，却发现它們的催化效率約比酶低  $10^7 \sim 10^{13}$  倍。Koshland 最近对这一問題进行了詳尽的討論<sup>[60,61]</sup>，他认为酶的催化，就其本质而言，可以看做是一般有机化学中催化现象的延伸，其特有的高效率也許可能从以下三方面的考慮求得答案。首先，虽然简单的酸性或碱性基团都具有一定的催化效率，但当它們共同作用时却具有更

高的效率，例如 *o*-羟基吡啶对于葡萄糖的变旋作用的催化效率即远较吡啶及酚分别或共同存在时为高。pH 影响酶反应速度曲线的形状也说明酸碱共同催化对于酶作用的重要性。其次，有机化学中熟知的分子内催化效率高于分子间催化的原因主要是由于催化基团和起反应的部位的邻近效应。在酶催化过程中，由于酶和底物的结合，此分子内催化的特征依然存在。最后，由于酶作用的立体专一性，酶和底物结合之后还必然造成催化基团和起反应部位间的定向关系。邻近效应增加了催化基团和起反应部位之间的碰撞机会，而定向关系则促使这种碰撞成为高度有效的。

Koshland 的假说对于米氏络合物的分解重新生成游离的酶和产物这一步反应 [参见式(1)] 提出了比较合理的解释途径。但是必须指出，就已經知道的一些例子来看，多数酶的这一步反应恰是其整个反应过程中最慢的一步，在不太高的底物浓度之下，米氏络合物的生成速度常远大于其分解的速度。远在三十年前 Haldane 就已經計算过，酶分子和底物分子发生有效碰撞形成米氏络合物的频率之高是在化学反应中极为少见的。如果考虑到酶分子之大，它与底物分子结合的部位又可能仅占其整个分子中的一小部分，而底物分子与酶分子中任何一部分发生碰撞的机会又似乎应该相等，则酶与底物发生有效碰撞频率之高就更为惊人。看来说明酶催化机制的关键似应在于米氏络合物的生成而不在于其分解。这一点在过去文献中几乎完全受到忽视，问题的确也十分困难，但必将成为酶催化机制研究的主要方向之一。

## 参考文献

- [1] Slater, E. C., in "Conference on Enzymes and Their Action", Wageningen, 1959.
- [2] Tamiya, H., Proceedings of the International Symposium on Enzyme Chemistry, p. 21, 1957.
- [3] Report of the Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry, 1961.

- [4] Turba, F., *Adv. Enzymol.*, **22**, 417, 1960.
- [5] de la Haba, G., *Biochim. Biophys. Acta*, **59**, 673, 1962.
- [6] Pogell, B. M., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **7**, 225, 1962.
- [7] Conference on Multiple Molecular Forms of Enzymes, Edited by Wroblewski, F., *Ann. New York Acad. Sci.*, **94**, 655, 1961.
- [8] Goldberg, E., *Science*, **139**, 602, 1963.
- [9] Schwartz, M. K., Kessler, G. & Bodansky, O., *Ann. New York Acad. Sci.*, **87**, 616, 1960.
- [10] Rofman, B., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **47**, 1981, 1961.
- [11] Bergmeyer, H. U., *Methoden der enzymatischen Analyse*, Verlag Chemie, 1962.
- [12] Leloir, L. F. & Goldemberg, S. H., *J. Biol. Chem.*, **235**, 916, 1960.
- [13] Kennedy, E. P., *Fed. Proc.*, **20**, 984, 1961.
- [14] Scriba, P., Schneider, S. & Holzer, H., *Biochim. Biophys. Acta*, **54**, 115, 1961.
- [15] Lane, M. D. & Lynen, F., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **49**, 379, 1963.
- [16] Wakil, M. & Waite, S. J., *J. Biol. Chem.*, **238**, 81, 1963.
- [17] Barker, H. A., *Fed. Proc.*, **20**, 956, 1961.
- [18] Rabinowitz, J. C. & Himes, R. H., *ibid.*, **19**, 963, 1960.
- [19] Hughes, R. C., Jenkins, W. T. & Fischer, E. H., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **48**, 1615, 1962.
- [20] Hoch, F. L., *Physiol. Rev.*, **42**, 605, 1962.
- [21] Rall, T. W. & Sutherland, E. W., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **26**, 347, 1961.
- [22] Villee, C. A., in "The Molecular Control of Biological Activity", p. 297, McGraw-Hill, 1962.
- [23] Kandler, O., *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **11**, 37, 1960.
- [24] Green, D. E., Structure and Function of Subcellular Particles, Vth International Congress of Biochemistry, Moscow, 1961.
- [25] Martins, C., *Angew. Chem.*, **73**, 597, 1961.
- [26] Slater, E. C., Colpa-Boonstra, J. P. & Links, J., in "Ciba Foundation Symposium on Quinones in Electron Transport", p. 161, Churchill, 1961.
- [27] Chance, B. & Redfearn, E. R., *Biochem. J.*, **80**, 632, 1961.
- [28] Chance, B. et al., *J. Biol. Chem.*, **236**, 1534, 1544, 1555, 1562, 1569, 1577, 1961.
- [29] 伍欽榮、邹承魯, 生理学报, **19**, 183, 1954。
- [30] 汪靜英、邹承魯、王應睐, 生理学报, **20**, 84, 1956。
- [31] Kearney, E. B. & Singer, T. P., *J. Biol. Chem.*, **219**, 963, 1956,

- [32] King, T. E. (金祖詒), *Biochim. Biophys. Acta*, **59**, 492, 1962.
- [33] 邹承魯、伍欽榮, 生理学报, **20**, 22, 1956。
- [34] Fowler, L. R. & Richardson, S. H., *J. Biol. Chem.*, **238**, 456, 1963.
- [35] Lehninger, A. L., *Physiol. Rev.*, **42**, 467, 1962.
- [36] Penefsky, H. S., Pullman, M. E., Datta, A. & Racker, E., *J. Biol. Chem.*, **235**, 3330, 1960.
- [37] Smith, A. L. & Hansen, M., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **8**, 33: 136, 1962.
- [38] Pinchot, G. B. & Hormansky, M., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **48**, 1970, 1962.
- [39] Siekevitz, P., in "The Molecular Control of Cellular Activity", p. 143, McGraw-Hill, 1962.
- [40] Lindberg, O., *Biochem. Pharmacol.*, **5**, 347, 1961.
- [41] Chance, B., Legallais, V. & Schoener, B., *Nat.* **195**, 1073, 1962.
- [42] Hofmann, K. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 833, 1963.
- [43] Ray, W. J. & Koshland, Jr., D. E., *J. Biol. Chem.*, **236**, 1973, 1961.
- [44] 邹承魯, 生物化学与生物物理学报, **2**, 203, 1962。
- [45] Laidler, K. J., *The Chemical Kinetics of Enzyme Action*, Oxford University Press, 1958.
- [46] Theorell, H., *Acta Chem. Scand.*, **15**, 1797, 1961.
- [47] Dixon, M., *Biochem. J.*, **55**, 161, 1953.
- [48] Eigen, M. & Maeyer, L. de, in A. Weissberger: *Techniques of Organic Chemistry*, Vol. **8b**, p. 895, 1963.
- [49] Hammes, G. G. & Kochavi, D., *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 2069, 2073, 1962.
- [50] Morales, M. F., Horovitz, M. & Botts, J., *Arch. Biochem. Biophys.*, **99**, 258, 1962.
- [51] Baker, Jr., R. H. & Mahler, H. R., *Biochemistry*, **1**, 35, 1962.
- [52] Bartholomay, A. F., *Ann. New York Acad. Sci.*, **96**, 897, 1962.
- [53] 邹承魯, 第一次全国生化学术会議汇刊, 1960。
- [54] French, T. C., Dawid, I. B., Day, R. A. & Buchanan, J. M., *J. Biol. Chem.*, **238**, 2164, 1963.
- [55] Schoellman, G. & Shaw, E., *Biochem.*, **2**, 252, 1963.
- [56] Grazi, E., Rowley, P. T., Cheng, T., Tohola, O. & Horecker, B. L., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **9**, 38, 1962.
- [57] Symposium on Free Radicals in Biological Systems. Ed. M. S. Blois et al., Academic Press, N. Y., 1961.
- [58] Szent-Gyorgyi, A., *Introduction to a Submolecular Biology*, 1960, Academic Press.

- [59] Samuels, A. J., Nihei, T. & Noda, L., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **47**, 1992, 1961.
- [60] Koshland, Jr., D. E., *Adv. Enzymol.*, **22**, 45, 1960.
- [61] Koshland, Jr., D. E., *J. Theo. Biol.*, **2**, 75, 1962.

# 近年来核酸的发展概况

王德宝

(中国科学院生物化学研究所)

核酸的发现已有九十多年的历史了，但早期的工作多限于其組成成分的分离鉴定，只吸引了有机化学家的注意，对核酸分子的复杂性和生物功能都沒有概念。二十多年以来一方面由于条件的成熟，新技术新仪器的不断采用，一方面由于核酸重要功能的次第发现，引起了科学界的普遍重視，除了有机化学家以外，大量的生物学家、物理化学家和一定数量的物理学家也紛紛从事核酸工作，因此近年来核酸的研究有了极其迅速的发展。可以举几个証据說明一下。(一) Steiner 和 Beers 曾統計《Chemical Abstracts》所收核酸文章的数目，发现 1957 年要比 1947 年多 11 倍，10 年中增加得这样快，在生物化学領域里是少见的。他們还这样預測过，如果照这样的速度前进，到 1963 年核酸的論文就要超过蛋白质，而在 1947 年核酸的文章只占蛋白质的百分之几而已。(二)《Annual Review of Biochemistry》在 1947 年前有关核酸的綜論不是經常有的，1947 年以后最多也只是每年 1 篇而已，但 1961 年以后每年都不止一篇。(三) 核酸的专著在 1931 年以前只有很少几本，1931~1959 又出现了几本，而在 1960 到现在 3 年多的时间差不多出了十几本。(四) 从 1962 年起一个专门刊登核酸文摘的新杂志《The Nucleic Acids》創刊了。这在生物化学的各分支学科中也是絕无仅有的。(五) 国际性的生物化学生物物理学杂志《Biochimica et Biophysica Acta》从 1960 年起出核酸专号，1960 年出 1 期，1961 年出 4 期，1962 年起每月出 1 期，篇幅逐年有所增加。(六) 近年来国际性的核酸討論会越来越多，足以說明这方面工作的活跃，进展的迅速，因此有必要經常进行交流。

由于对核酸的研究逐渐深入，对核酸的生物功能有了較多的認識，现在知道生物体的一些最根本的生命现象如生长、遗传、变异等都和核酸有非常密切的关系，要弄清生命现象的本质，必須对核酸有彻底了解才有可能，因此核酸不仅是生物化学的一个极其重要的分支，而且是生物科学上最重要的中心課題之一。

核酸的飞跃发展不但刺激了遗传学、病毒学、生物化学、生物物理学、微生物学等的进展，有其理論意义，对了解某些重大实际問題如肿瘤的发生、病毒的致病和防治、射綫的作用机制等也起了重要指导作用，而这些实际問題的迫切需要解决，又促进了核酸研究的蓬勃开展。下面想分別就几个方面作一简单介紹。

### 一、分 离 提 純

核酸分子庞大，其組成成分又比較單調（主要只含 4 种碱基），因此核酸的分离提純一直是比較困难的問題，一般用于蛋白质有效的方法如超离心、电泳等等，对核酸就不一定有很大用处。但近年来从生物組織分离不变性不降解的接近天然状态的大分子核酸还是取得不少成績，如具有轉化因素活力的 DNA，能接受和传递氨基酸的 sRNA，具有感染能力的病毒核酸等都成功地分离出来了。但要得到分子均一的純核酸，除在极少数情况下（如某些病毒）外，尙待努力。最近 sRNA 的提純工作做得比較多，也取得了一些进展，特別值得提出的是 Apgar 等用逆流分溶法反复純化，从酵母 sRNA 得到只能接受一种氨基酸的 sRNA，其純度达到 45~66%（酪氨酸 sRNA 45%，纈氨酸 sRNA 60%，丙氨酸 sRNA 66%）。Doctor 等也用逆流分溶法得到純度为 63% 的丙氨酸 sRNA 和純度为 66% 的酪氨酸 sRNA。Zachau 等合并使用  $\text{NaIO}_4$  氧化法和逆流分溶法，得到 87% 純度的絲氨酸 sRNA。Stephenson 和 Zamecnik 在用  $\text{NaIO}_4$  氧化法以后，继之以 DEAE-Sephadex 层析得到 65~80% 純度的纈氨酸 sRNA，在某一次实验中还得到 90~100% 純度的纈氨酸 sRNA。提純核酸是国际上非常重視的問題，因为要了解核酸的化学结构，以及结构和功能之間的关系，

都需要很純的核酸，解决了这一关键問題，对其他方面的研究才能深入。

## 二、組成成分

在 1950 年以前，一般教科书都写着 RNA 含有腺嘌呤、鸟便嘌呤、尿嘧啶和胞嘧啶四种碱基，DNA 也含有四种碱基，和 RNA 的差別在于 DNA 不含尿嘧啶，而含胸腺嘧啶，其他三种碱基則相同。但由于分离分析方法的进步，现在知道核酸中的嘧啶碱和嘌呤碱大大超过了上述几种，特別在 sRNA 中发现了很多新的碱基，它們的含量一般較少，所以过去都被忽視了。现在把这些碱基的名称列于表 1，可以看出它們絕大多数是在 1958 年以后发现的。

还有一点值得一提的，就是过去都认为 RNA 不含胸腺嘧啶，DNA 不含尿嘧啶，甚至把有无胸腺嘧啶或尿嘧啶当做 RNA 和 DNA 的分类标准之一，这个概念在现在看来很有問題了。

此外还发现 RNA 除核糖外含有 2-*o*-甲基核糖，大肠杆菌双数 T 噬菌体和某些枯草杆菌噬菌体的 DNA 还含有葡萄糖，这些也都是近十年中发现的。

除了新碱基外，还发现了些新核苷酸，如假尿嘧啶核苷酸（1957 年发现的），在这个核苷酸中，核糖不連在尿嘧啶的 N<sub>1</sub> 原子上，而是和 C<sub>5</sub> 連接，这个核苷酸广泛存在于各种来源的 sRNA 中，含量也比较多人，似乎和 sRNA 接受和传递氨基酸这一功能有关。1963 年 Hemmes 报告某些啤酒酵母 RNA 中含有一个新的鸟便嘌呤核苷酸，核糖連在鸟便嘌呤的第一个氮原子上，而不是和一般的嘌呤核苷酸一样，連在第九个氮原子上。

随着提取方法的进步，容易得到大量的核酸样品，再加上分离分析方法的不断改良，灵敏度大大增加，如果不断地从核酸分子里发现新的成分或新的结构，那是毫不为奇的。

表1 核酸中的新碱基

名 称	发 现 者 (年份)	发 现 来 源
6-甲氨基嘌呤	Dunn 和 Smith(1955)	某些变种大肠杆菌 DNA
6-甲氨基嘌呤	Littlefield 和 Dunn(1958)	酵母鼠肝及某些细菌 RNA
6-二甲氨基嘌呤	同 上	同 上
2-甲基腺嘌呤	同 上	同 上
1-甲基腺嘌呤	Dunn(1961)	肝脏酵母 RNA
1-甲基鸟便嘌呤	Adler 等(1958)	酵母 RNA
2-甲氨基-6-酮基嘌呤	同 上	同 上
2-二甲氨基-6-酮基嘌呤	Smith 和 Dunn(1959)	鼠肝 RNA
7-甲基鸟便嘌呤	Dunn (1963)	大肠杆菌 RNA
次黄嘌呤	Hall (1963)	酵母 RNA
1-甲基次黄嘌呤	同 上	同 上
5-甲基胞嘧啶	Wyatt (1950)	动植物 DNA
5-甲基胞嘧啶	Amos 和 Korn(1958)	细菌 RNA
5-羟甲基胞嘧啶	Wyatt 和 Cohen(1952)	大肠杆菌双数T噬菌体DNA
胸腺嘧啶	Littlefield 和 Dunn(1958)	酵母鼠肝及某些细菌 RNA
5-羟甲基尿嘧啶	Kallen 等 (1962)	枯草杆菌噬菌体 DNA
尿嘧啶	Takahashi 和 Marmur (1963)	枯草杆菌噬菌体 DNA
3-甲基尿嘧啶	Hall (1963)	酵母 RNA
3-甲基胞嘧啶	同 上	同 上

### 三、物化性质与大小构型

核酸分子庞大，构型复杂，给研究工作带来了很大困难，但经过近十多年来科学工作者的辛勤劳动，还是有极为惊人的进展。主要利用X-射线衍射的数据，Watson 和 Crick 提出了DNA分子具有双螺旋结构，这个学说现在得到了很多实验的支持，对了解DNA的生物功能具有重要的指导意义。Spencer 等用X-射线衍射法研究了晶形sRNA的结构，也得到了相似的结论，即sRNA分子具有完整的螺旋结构。最近Langridge 和 Gomatos, Tomita 和 Rich 分别研究了动物reovirus和植物创伤肿瘤病毒的RNA，也都证明这些RNA有完整的二级结构。利用流体动力学以及光

學方法，对核酸分子的大小虽然也有了一些概念，但放射显迹图和电子显微鏡的运用，对天然 DNA 分子的大小，更有了比較正确的概念。近来对核酸变性和降解的研究，也比較深入，并能結合核酸的生物活力进行試驗，对核酸的結構和功能之間的关系提供了綫索。Meselson 等設計的密度递度超离心法，对 DNA 在生物体內的复制机制，mRNA 的存在，核酸分子中核苷酸排列順序的碱基对应性等問題的解决都有很大貢獻。这方面的工作需要設備比較多，如 X-射綫衍射仪、超离心机、光散射仪、旋光色散計、紫外光光度計、紅內光光度計、流动双折射仪、电子显微鏡、电子順磁共振仪等等。

## 四、化 學 結 构

(即核酸內核苷酸排列順序問題)

这是目前国际上注意的中心，因为大家都认为解决了这个問題，就有可能了解核酸的作用机制。但由于問題本身的困难，这个問題的解决还不是很短時間就能看得到的。主要的困难有以下几个方面：1. 分子均一的純核酸(除个别例外)还没有拿到，2. 核酸分子过于庞大，而其主要碱基只有 4 种，3. 四种碱基彼此之間的差別較小，4. 解决核苷酸排列順序的方法还不具备。但近年来这方面也还做出了不少成績，譬如 sRNA 和氨基酸联接的末端三个核苷酸必須是 CCA，第四个核苷酸主要是 A (約占 70%)，其次为 G (約占 21%)，再則为 U, T, 等(合計占 8.6%)。最近 Berg 等还发现接受不同氨基酸的 sRNA，其末端核苷酸順序不同，如异白氨酸 sRNA 的末端为…pGpCp(UpC)pApCpCpA，而白氨酸的 sRNA 則有两种，其末端分別为…pGpCpApCpCpA 和…pGpU pApCpCpA。对 sRNA 的另一末端(即不接氨基酸)的結構也有一些工作在进行研究。又如利用牛胰 RNase 和高峰淀粉酶 RNase T<sub>1</sub> 的作用特异性，Holley 等对一些純化了的 sRNA 特別丙氨酸 sRNA 进行了較为詳細的結構分析。用同样的方法对烟草花叶病

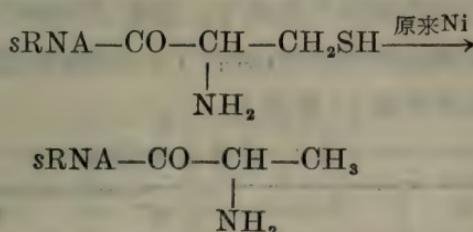
毒 RNA 的化学结构也做了不少工作。在 DNA 方面，主要利用化学方法，发现 DNA 链中嘧啶核苷酸和嘌呤核苷酸都有成“堆”出现的现象。此外，利用酶促合成和同位素标记（主要为 P<sup>32</sup>）的方法，还对不同来源 DNA 中最邻近核苷酸排列顺序的规律做了探讨。除了继续寻找特异性强的工具酶，和更有效的产物分离鉴定方法以外，近年来还有人试图用化学方法改变碱基的性质，以增加核酸酶的特异性和用物理方法解决核酸的化学结构，如电子显微镜法，X-射线衍射法等。

## 五、生物功能

核酸的生物功能近年来有极其迅速的进展，核酸在生物科学中所以受到特别重视是和这方面的成就分不开的。

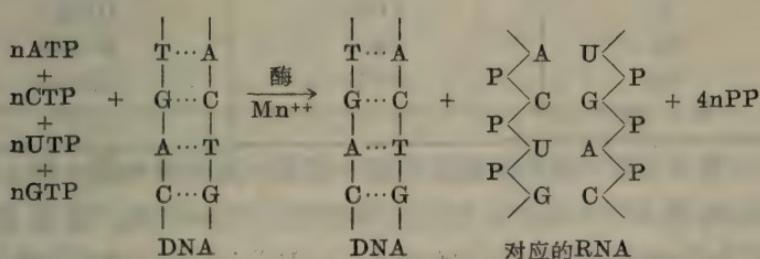
**1. 蛋白质的生物合成** 生物体生长的主要生化基础是合成蛋白质，从一些间接证据（细胞学组织学的证据以及器官生长和 RNA 含量的关系等），1941 年起就有人提出 RNA 和蛋白质生物合成密切有关，1957 年发现了 sRNA，它起着传递活化氨基酸的作用，是从氨基酸合成蛋白质过程中必不可少的环节，sRNA 分子较小（平均分子量 25,000~30,000），但种类繁多（每一种氨基酸至少有一种 sRNA），因此给提纯工作带来很大困难。活化的氨基酸从 sRNA 传递到核糖核蛋白体上，就合成多肽，最后形成蛋白质。核糖核蛋白体上的 RNA 分子比 sRNA 大得多，大概有两种，一种分子量在 600,000 左右，另一种分子量在 1,200,000 左右。除 sRNA 和核糖核蛋白体 RNA 外，1961 年又发现一类传递讯息的 RNA（即 mRNA），在蛋白质生物合成过程中起着重要的作用。这类 RNA 代谢旺盛，更新率快，分子大小不一，其碱基组成和其他两类 RNA 不同，而和同一细胞的 DNA 相似，它能把 DNA 的讯息带到核糖核蛋白体上以合成蛋白质，在这过程中它起着样板的作用，因此在大肠杆菌合成蛋白质的无细胞系统中，加入 TMV 的 RNA，就能合成类似 TMV 的蛋白质，加入 f<sub>2</sub> 噬菌体的 RNA，就能合成类似 f<sub>2</sub> 噬菌体的蛋白质等。

但 sRNA 在决定蛋白质中氨基酸的排列順序时也起着一定的作用，譬如有人用化学方法处理半胱氨酸 sRNA，使其变为丙氨酸 sRNA，



在大肠杆菌的无細胞制剂中，加入含鸟便嘌呤和尿嘧啶的多核苷酸(poly UG)可以增加半胱氨酸的参入作用，而对丙氨酸的参入无影响，但当用上述的丙氨酸-sRNA 进行实验时，由于所用 sRNA 为半胱氨酸的专一性 sRNA，丙氨酸的参入作用也增加了。这个实验說明虽然样板 RNA(这里是 poly UG)不具备丙氨酸的密碼，但只要所用的 sRNA(在这里是半胱氨酸的 sRNA)能为它所接受，仍然能增加丙氨酸的参入，sRNA 在这里起着重要的“接头”作用。

**2. 遗传密码的实验証明** 遗传訊息是通过 DNA→RNA→蛋白质的程序表达出来的。DNA 的訊息通过其核苷酸的排列方式，影响了 mRNA 核苷酸的排列順序，而付予 mRNA。在这个过程中，大体是通过碱基对应的关系而达到目的，如下式所示：



至于 RNA 的核苷酸怎样影响蛋白质氨基酸的排列順序呢？这个问题过去受到颇多注意，但一直停留在理論探討上，而缺少实验証明。1961 年 Nirenberg 和 Matthaei 在大肠杆菌的无細胞制剂

系統中，加入多尿核苷酸(poly U)，发现苯丙氨酸的参入作用大大增加，还得到了含苯丙氨酸的多肽，这样第一次用實驗證明 U，或 UU，或 UUU，…是苯丙氨酸的密碼，把 RNA 中核苷酸和蛋白质中氨基酸之間的关系联系起来了。以后 Nirenberg 和他的同工作者，Ochoa 和他的同事們，进行了一系列的實驗，几乎把所有氨基酸的密碼都弄清楚了(如表 2)。

表2 氨基酸的密码

氨 基 酸	Nirenberg 密 碼	Ochoa 密 碼
丙	UCG	1U1C1G
精	UCG	1U1C1G
门冬酰胺	---	1U2A, 1U1A1C
门冬	- -	1U1A1G
牛胱	UUG, UGG	2U1G
谷	UGA	1U1A1G
谷氨酰胺	---	1U1C1G(?)
甘	UGG	1U2G
组	---	1U1A1C
异白	UUA	2U1A
白	UUC, UUG	2U1C, 2U1A, 2U1G
賴	UAA	1U2A
甲硫	UGA	1U1A1G
脯	UCC	1U2C
絲	UUC, UCG	2U1C
苏	---	1U1A1C, 1U2C
色	UGG	1U2G
酪	UUA	2U1A
纈	UUG	2U1G
苯丙	UUU	UUU

可以看出，他們的結果是很一致的，因为排列順序还不清楚，Ochoa 等用 1U1C1G 来表示丙氨酸，Nirenberg 等虽然写了 UCG，但也并不认为丙氨酸的密碼就是 UCG，而不是 UGC, GCU, CGU…。此外他們目前都用的三体密碼，因为有証据指出三体密碼的可能性很大，但也不是最后定論。有的氨基酸有不止一个密碼，如白氨酸，这叫做簡并现象，最近发现接受白氨酸的 sRNA 也

不止一个，給这个簡并现象以新的支持。还有一点可以提一下的，就是按这个密碼計算，mRNA 中含U将过多，和实际情况不符，但 Nirenberg 等，Ochoa 等以后都发现了很多不含U的密碼，并且对原有的含U密碼作了修改(如取消了苏氨酸的 1U2C 的一个密碼)，得到如表 3 的結果，可见密碼的簡并现象是很普遍的。

表3 修改过的氨基酸密碼

氨 基 酸	含 U 的 密 碼	不 含 U 的 密 碼
丙	CUG	CAG,CCG
精	GUC	GAA,GCC
门冬酰胺	UAA, CUA	CAA
门冬	GUA	GCA
半胱	GUU	---
谷	AUG	AAG
谷氨酰胺	UAC	AAC
甘	GUG	GAG,GCG
组	AUC	ACC
异亮白	UUA, AAU, CAU	---
白	UAU, UUC, UGU, CCU	---
賴	AUA	AAA
甲硫	UGA	---
苯丙	UUU, UCU	---
脯	CUC	CCC,CAC
絲	CUU, UCC	ACG
苏	UCA	ACA,CCA
色	UGG	---
酪	AUU, ACU	---
纈	UUG	---

**3. 其他** 病毒核酸能直接感染寄主，这也是近十年中的重大发现，利用亚硝酸处理 TMV-RNA，使氨基核苷酸脱氨成相应的酮基核苷酸接种以后，得到了变种病毒，更是结构影响功能的最好说明。与此有关的近年来很多人在进行肿瘤核酸致癌的研究，但还没有得到一致的看法。此外还有人认为动物和人类的学习和记忆等也都和 RNA 有关。

## 六、分 解 代 謝

核酸大分子如何在生物体内通过一系列酶的作用經過核苷酸、核苷、碱基及糖的磷酸酯等不同阶段，最后分解成氨、二氧化碳、磷酸、水等最終产物的主要过程基本上已弄清楚，目前注意力轉入一些特殊組成成分的代謝，如假尿嘧啶核苷酸以及甲基化嘌呤化合物的降解途径等。此外对病理状态下的核酸代謝也有不少工作在进行，如比較正常組織和肿瘤組織核酸代謝的异同，希望通过这些工作，能找到控制核酸代謝防治疾病的方法。

## 七、生 物 合 成

主要嘧啶碱嘌呤碱的生物合成途径也是在过去十年內弄清楚的，而且知道最早都是以核苷酸的形式出现，脱氧核苷酸由核糖核苷酸还原而成，但詳細机制还不完全清楚。DNA 生物合成的过程已大体解决，即四种脱氧核苷三磷酸通过 DNA 聚合酶的作用，以 DNA 为样板而合成新的 DNA（即 DNA 自身复制），对某些特殊情况下 DNA 的合成途径（如大肠杆菌双数 T 痘菌体的 DNA）也做了不少工作。但在細胞分裂前后，DNA 的合成是通过怎样的机制来控制的，还存在各种不同看法，有待于今后进一步研究解决。RNA 的生物合成最初以为由核苷二磷酸經多核苷酸磷酸化酶作用而形成，近几年的工作則倾向于核苷三磷酸的途径，和 DNA 的生物合成相似，四种核苷三磷酸在 DNA 样板的影响下，經過 RNA 聚合酶的作用而合成 RNA，这个酶广泛存在于动植物和微生物中，較多核苷酸磷酸化酶（主要在微生物中找到）有更普遍的意义。此外还发现以 RNA 为样板的 RNA 生物合成，对某些 RNA（如病毒 RNA）的生物合成具有重要意义。

核酸中新碱基新核苷酸的合成，最近也受到重視，如假尿嘧啶核苷酸的合成以及甲基化嘌呤和嘧啶化合物的形成等，现在有証据这类化合物的甲基化作用是在多核苷酸鏈形成以后进行的，而且不同的碱基由不同的酶所催化。

## 八、化 学 合 成

核苷、核苷酸的化学合成，国际上早已成功，多核苷酸的合成工作也在开展中，但由于需要保护的基团比较多，而且基团之间的共同性比较强（如核糖上第二和第三两个羟基），比之多肽的合成要困难得多。然而这些工作有其理论意义，如为核酸的生物合成准备必要的原料，为研究核酸酶的作用机制提供必要的底物；另一方面亦有其实际价值，如合成治疗肿瘤的抗核酸代谢药物等，5-氟尿嘧啶脱氧核苷就是一个例子。

## 九、其 他

具有重要生化意义的核苷酸类化合物种类极多，如一些辅酶（辅酶 I、辅酶 II、辅酶 A、核腺二核苷酸等），在糖类代谢中起重要作用的尿核苷二磷酸葡萄糖，在脂肪代谢中起重要作用的胞核苷二磷酸胆碱，在蛋白质生物合成中起重要作用的鸟三磷，同激素作用有关的腺核苷-3',5'-环状磷酸等，类似的化合物近年来还不断的有所发现。最近又发现一类核苷酸肽化合物，其合成方式和生物功能都不完全了解，但广泛存在于各种生物体内，因此引起一定的重视。

从以上非常简单的叙述中可以看出核酸在近年来有极其迅速的发展，而且发展的速度正有增无减，今后的发展更不可限量。我国核酸研究的历史极短，在解放以后才有人从事这项工作，人也很少，如何统筹安排，设置必要的设备，组织一定的人力，尽早的掌握国际上已有的成就，并在此基础上，奋发图强，迎头赶上，实属刻不容缓。

**本文采用下列簡写字:**

RNA 核糖核酸

sRNA 可溶性核糖核酸

mRNA 传递訊息的核糖核酸

DNA 脱氧核糖核酸

RNase 核糖核酸酶

A、C、G、U、T等 分別代表腺嘌呤、胞嘧啶、鸟便嘌呤、尿嘧啶、胸腺嘧啶核苷酸

TMV 烟草花叶病毒

DEAE-Sephadex 带二乙氨基乙基的葡聚糖凝胶制剂

# 新陈代谢研究的现状和展望

沈 昭 文

(中国科学院生物化学研究所)

研究生物体如何处理各种物质、处理的过程如何、怎样制造所需的物质、怎样取得所需的能量等等問題的學問，均属新陈代谢（以下簡称代謝）的范畴，因此代謝所着重的是生物化学的动态方面。其初，从医疗的实践方面提出了很多問題，随着这些問題提得愈来愈多，代謝的研究就愈见得重要，待达十九世紀初，可以說代謝的研究工作已經展开了。最初的工作是在完整的动物体身上做的；这些早期的劳动給我們奠定了代謝研究的基础，但是由于代謝过程的复杂性和整体观察的局限性，应用这些方法所获得的知识不多。大約六、七十年以前，当观察的对象逐渐从整体轉移到离体的組織，继而到細胞碎片，甚至到淨化的酶，代謝的研究就取得了更大的成就。近二十多年来，由于广泛地使用了同位元素标记技术以及各种色层分析和超微量分析等新方法，整个生物化学的領域，尤其是代謝，获得了飞跃式的发展。目前，各个重要的代謝途径几乎都已經搞清楚了。我們还需要繼續努力的是有关这些途径的細节以及它們之間的相互关系等方面。

但是，生物毕竟是以整体的形式生存着的，我們为了要搞清楚局部的变化，要追踪到分子和分子間的相互轉化，都必須采用离体的、拆开来看的办法。不能否认，这些办法取得了很出色的成就，并且肯定还要繼續起作用，為我們揭开更多生物界的秘密。可是在另一方面，也不难看到，代謝的研究已經逐漸轉向一个新的方向，那就是代謝的調節和控制問題。近年来，象細胞結構和功能的关系、細胞代謝的調節因素、激素的作用机制，以及神經的作用和它对于很多綜合性活动（肌肉收縮等）的控制等課題，正在成为引

人注意的中心。这样，前一个时期的深入“分析”工作行将开花結果，促使我們过渡到一个新的“綜合”研究的阶段。只有当我們的“离体”知識能够放回到“整体”里去來說明整体活动的时候，方才可以获得正确的观念，真正解决問題！

在这样的理解下可以看到当前的和今后的一个时期內，代謝研究的主流将逐渐从途径的闡明轉向調節控制的探討。代謝的中心課題将会落在下列的几个方面：(1)代謝过程和代謝途径的闡明，(2)能量的代謝，(3)細胞結構的闡明和結構与代謝功能的关系，(4)代謝的調節和控制，包括結構的調節作用、化学的調節、激素的調節以及外界因素的影响，(5)比較代謝，(6)器官与組織的代謝，(7)不正常代謝。

### 一、代謝過程和代謝途径的闡明

代謝的中間過程，原来是一个极其困难的課題，时常只能利用特大剂量或者是病体观察获得一些綫索，要得到什么肯定結果，頗不容易。但是自从二十多年前开始大量应用同位元素標記方法以来，已經不是很麻烦的事情。目前，一些重要的代謝途径已經基本上搞清楚。在糖代謝的領域里，象糖酵解的过程和生物氧化的若干步驟，早已在应用同位素之前大体辨认清楚。这是值得欽佩的工作。因为在沒有標記物的时代，只有通过大量的劳动和精巧的琢磨，方才可以获得可靠的結果。实际上，此后进行的許多同位素實驗証实了绝大部分的結果；自然也补充了許多資料，糾正了一些錯誤。其他如戊糖磷酸途径、乙醛酸途径、丙酮酸的羧化、糖碳酸的形成，以及光合反应、糖的相互轉化、双糖和多糖的合成等等過程，几无例外地为近十多年来（尤其是近十年来）闡明的。同样，氨基酸的降解過程，除了酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、含硫氨基酸的若干代謝步驟在較早的年代里已經知道而外，绝大部分的知識是通过標記實驗获得的。至于氨基酸的合成途径，那更是近年来標記實驗的貢献了。再說脂肪酸的氧化，虽然早在五十多年前就已經具有輪廓，可是氧化的中間過程也是近来方才闡明的。至于脂肪

酸的合成、脂肪及磷脂的合成、类固醇及类胡蘿卜素的合成途径的研究，还是最近七、八年的課題，其中有些已經大体解决，有些还待努力。最近的观察說明这些物质的合成途径，可能都不止一种。关于核苷酸及类似物质的代謝过程，亦于近十多年来通过标记实验闡明。它們的合成方式頗饒兴味，最先生成的是戊糖磷酸，碱基是在糖分子上逐步建筑起来的。

綜上所述，几乎所有的重要代謝过程均已具有輪廓，剩下的重要問題看来就在二个方面，即蛋白质和核酸二种生物高分子的代謝。关于这二类物质的生物合成，前十年好象还是一座坚实难攻的堡垒，生物化学只能做些外围工作，但是最近的努力已經打破了僵局，尤其令人兴奋的是这二种物质的合成越来越清楚地表现密切相联的关系。核糖核酸可以在特定的情况下指导氨基酸按程序排列成肽鏈几乎是已經肯定的事实，从最近的发展看来，核糖核酸又和脱氧核糖核酸有结构上相对应的关系，这样的关系就使得蘊藏在脱氧核糖核酸分子中的訊息传到并且也表现在所合成的蛋白质分子身上。由于这些实验能够离体地进行，可以估計在不太长的时间里整个生物高分子的复制問題会获得答案。

但是，这样說并不意味着代謝途径和代謝过程的研究行将結束。應該指出，几乎每一个代謝途径都有不少未解决的問題，例如許多過程的細节还有待补充，許多代謝途径的具体运转情况和所需条件尚須进一步闡明。更重要的，代謝途径是由若干离体实验的結果拚湊起来的，多少带有揣測的成分，因此有必要在整体上进行考驗，在反复証实以后，方才可以断定这些途径确实在生物体中进行着。此外，自然不能說我們已經发现了一切的代謝途径，今后的一个时期，还会有新的代謝途径显现出来，在我們难得接触或者从未研究过的生物身上，尤其有可能找到新的和我們所熟知的途径不同的代謝方式。更进一步来看，各个代謝途径在生物体所占的地位、它們之間的相互关系、它們随着生物体的不同生理状况或者在各种外界因素的影响下，会发生什么变化……这些都是等待着我們来努力闡明的問題。

## 二、能量代謝

代謝過程的深入研究，除了對於這些過程的細節提供資料而外，還有助於了解這些過程中能量的運轉情況。我們已經認識到，降解代謝的總趨勢是放能的，而合成代謝的總趨勢則是攝取能的。約在三十年以前，我們就找到了生物體內廣泛存在的化學能的“活化”形式，即所謂“高能化合物”，其中的主要成員是腺嘌呤核苷三磷酸（簡稱腺三磷），從那個年代開始我們發現了無數的需要腺三磷供能的代謝活動，也陸續發現了其他的“活化”形式，象鳥嘌呤核苷三磷酸、尿嘧啶核苷三磷酸、胞嘧啶核苷三磷酸等化合物。

腺三磷供能一般通過專一的酶類，通稱腺三磷轉磷酸酶類，它們催化的反應，促使中間產物轉化為“高能化合物”，便於進行下一步的反應。腺三磷供能的具體方式，常見的看來有三種：（1）腺三磷將它的第三磷酸根轉移給需能的化合物而生成“活化”的中間物和腺二磷，象甘油、葡萄糖、果糖-6-磷酸的磷酸化反應都是如此，（2）腺三磷的核苷酸部分轉移給需能化合物，產生腺核苷酸和該化合物結合而成的“高能型態”，另外一個產物是焦磷酸，例如氨基酸合成蛋白質的第一步就是生成氨基酸和腺核苷酸的混合酸酐，而以這樣的活化形式參加到下一步的反應，又如脂肪酸和腺核苷酸結合而成的混合酸酐為脂肪酸加長碳鏈所進行的第一步反應，（3）腺三磷將它的第二和第三磷酸根，以焦磷酸的形式轉移給受體，產生它的焦磷酸化合物，而腺核苷酸則以游離狀態釋放出來，例如核糖-5-磷酸生成 5'磷酸核糖焦磷酸，可作為這類反應的代表。

目前可以斷言，各種核苷三磷酸，特別是腺三磷，是生物體從中直接取能的流動供能站，有別於象肌酸磷酸、精氨酸磷酸等儲備形式的“高能化合物”。既然是可以直接利用的供能站，它們的生成成為能代謝的重要研究課題。已經知道腺三磷的來源有下列三個主要方面：（1）某些代謝過程中生成的“高能磷酸化合物”，如酵解過程中生成的 1,3 二磷酸甘油酸和磷酸烯醇丙酮酸，實際上蘊藏著糖分子裡的部分能量，它們可以通過專一的酶轉移“高能

鍵”給腺二磷而生成腺三磷，(2)更多的腺三磷分子是通過氧化磷酸化作用生成的，主要代表各種脫氫反應中生成的還原輔酶的重氧化，其中的部分能量通過尚未闡明的機制轉移到同一個時期中生成的腺三磷分子，這種在線粒體中進行的所謂偶聯反應乃目前多方面注意的問題，是研究的一個焦點，(3)直接利用陽光的能量而形成腺三磷分子，是綠色植物特有的本領，和葉綠體有密切的關係，乃植物生化方面研究的一個焦點，原因不僅是为了光合磷酸化是植物的重要活動，更有意義的是它代表一種高效的光能轉化。

流动供能站的化学能，怎样轉化为机械能，如肌肉收縮所需的那样，虽然是研究了很久的課題，还是远未获得定論。前几年的實驗似乎否定了腺三磷為直接能源的說法，但是最近使用单一肌纖維的實驗看來又翻了案。問題无疑是复杂的，生物体能轉化的机制可能有几套高效率的方式，隨着實驗技术的进展，可以展望着這些生物学、化学、物理学的邊緣問題，会迅速获得滿意的答案。

### 三、細胞結構和代謝

細胞學近年来有很大的進展，主要在細胞內部結構的進一步認識。這些成就大半依賴着電子顯微、差速離心分離、微量和超微量分析、組織酶學和顯微電影等技術的應用。細胞里的重要結構成分，象細胞核和線粒體等，已經成為生物化學研究的對象。線粒體的雙層膜和它的許多脊片是很容易在電子顯微鏡下觀察到的；有很多迹象說明線粒體可以獨自運動，可以進行呼吸、合成蛋白質等活動，乃是細胞內有組織的結構單位。近年来生物化學的觀察指出線粒體具有完整的三羧酸循環酶系、脂肪酸氧化酶系和電子傳遞系統，因此我們時常稱之為細胞的“發電單位”。這些事實促使我們相信，線粒體自身應該具有嚴密的細微結構，從它們能够進行系列的、酶催化的代謝反應來看，它們必須具有安排得極有秩序的多酶體系，頗似一個大工廠有很多按生產程序安排的車間一樣。

但是，細胞漿里還有其他有酶活動的區域。在電子顯微鏡下許

多動物細胞呈現著所謂網狀內質結構，乃是一些似膜的物質，或者是平行的或者是交替聯繫著的，形成許多渠道和口袋。在這些膜上還可以觀察到許多小顆粒，一般稱為核糖核蛋白體(ribosomes)，目前已經有不少的証據指出這些顆粒為細胞內蛋白質合成作用旺盛的地方。這些是有形的部分，近年有人發現，即使是那些看不到有什么具體結構的部分，也表現不少酶的活力，並且有些酶，象若干種水解酶類，時常聚在一起，在特定的差速分離條件下還是保持在同一个部分，這樣的一種酶的集體稱為溶酶體(lysosome)。不難看到，細胞結構研究的成果給我們提供了所謂代謝活動區域化(compartmentation)概念的物質基礎；簡單地說，代謝活動中酶和底物如果不能接觸(不处在同一個區域)，就不可能發生應有的反應。

細胞在結構上形成許多區域，因而產生了一些隔離現象，只是情況的一個方面。現代細胞學成就的另一個重要方面是它為我們指出了細胞在結構上的可變性。除了已經提到的線粒體和網狀內質，必須指出細胞核和高爾基體也是具有膜的結構單位，我們自然不能忘掉細胞自身也是具有膜的，而所謂溶酶體是否具有一種未能觀察到的膜乃是尚未有答案的問題。近來的觀察指出，細胞內部的膜，不是固定的結構，象細胞核的雙層膜，其外層常和網狀內質連在一起，似乎是形成缺口，給核和漿有溝通的機會。有人認為這就是核內脫氧核糖核酸給核外成分傳遞訊息的具體表現，這雖有可能，還是缺乏直接的証據。即使是細胞自身的膜，也不是我們早年所認為的那麼穩固的結構，已經反複觀察到的吞噬現象說明細胞膜除了一般的隔離作用而外，還具有和外界溝通的靈活的方式，因此我們思想上不宜拿細胞膜的屏障效應看死。

根據這些新的觀察，我們應該拿細胞看作構造極為複雜的同時又是極為活躍的個體，既有大小器官和各種區域的獨立性而又具有適應環境相互溝通的可塑性。細胞的各個器官必須有各自的功能，有的象網狀內質、高爾基體等還不知道究竟擔任什麼角色，估計隨著細胞細微結構知識的進展，這些器官在細胞代謝上的地位

会日益明确。从另一方面看，离体的代谢知识，如果要经受放回到细胞和整体里去的考验，必须和细胞结构的研究紧密地结合起来。

## 四、代謝的調節

无论是哪一种生物，都要对于它的代谢过程进行调节以适应它自身的需要。在已经过去的一个时期里，代谢的工作主要在搞清楚代谢的过程，认识代谢途径，在缺乏这些知识的情况下，很难对于代谢的调节问题进行什么探讨。近年来由于主要的代谢途径已经阐明而有关细胞结构的知识亦已达到新的水平，代谢调节的研究就获得了着手的起点，而逐渐热闹起来了。

细胞具有细微结构和细胞内存在有区域的事实就构成一种调节因素。象线粒体这样一种细胞器官是搞得比较清楚的，它是一种具有双层膜的颗粒，在细胞内成为一种活动单位，能够进行整套的氧化和电子传递活动。很容易想到，这些氧化过程要求底物直接接触线粒体，因此进入细胞的底物有可能不被氧化。同样，可以想象细胞内的各种膜样物质会具有选择通透性能，而各种膜的通透性可随着环境改变，形成对于底物进出的控制因素。不仅如此，有迹象表明，有些膜具有和酶结合的能力，而和膜结合的酶可能在活力上有改变，直接影响代谢进行的速率。此外，酶的作用时常需要一些所谓辅助因子，如辅酶 I 和辅酶 II、腺三磷和腺二磷等物质，有关的酶是否和它们的辅助因子在一起就成为重要的决定因素，因此某种辅助因子是否存在与某一区域能够直接关系到某一代谢过程能否进行，或者更广泛些看，也可以关系到某一代谢途径是否能正常地运转。

和细胞结构殊途同归的还有另外一种调节方式。例如，腺三磷转变为腺二磷和无机磷酸盐的反应是在生物体内经常发生的，它的速率和生物体能量的总的消耗速率有成比例的关系，但是这一反应的产物恰好又是生物体内聚能反应的原料，这些产物的积聚增加了这种原料，有利于腺三磷的生成，因此腺二磷和无机磷酸的

生成推動了消除它們自己的反應，形成了一套循環運轉的關係。這樣一種循環運轉關係，完全符合工程學上所謂“反饋”作用，而反饋實際上是一種簡單的自動調節作用。近來發現反饋現象在生物的各種運轉中是常見的，有許多降解和循環的代謝途徑上已經發現許多酶催化的反應的產物抑制酶作用的例子，象草酰乙酸抑制蘋果酸脫氫酶、葡萄糖-6-磷酸抑制己糖激酶等。除此之外，最近發現了很多合成代謝的終點產物抑制合成的初期反應的例子，一般稱為終點產物的反饋抑制作用。大腸杆菌中門冬氨酸轉氨甲酰酶所催化的反應為此菌合成嘧啶核苷酸的初期反應，而這一反應恰為胞嘧啶核苷三磷酸強烈抑制。又如大腸杆菌還有門冬氨酸激酶，催化門冬氨酸進行磷酸化生成 $\beta$ -門冬酰磷酸的反應，此為三種不同氨基酸（賴氨酸、蘇氨酸、高絲氨酸）的前體，最近發現有趣味的事實，即此菌似有三種不同的門冬氨酸激酶，各自被賴氨酸、蘇氨酸、高絲氨酸所抑制，這樣的安排保證了一種終點產物過多的時候，不至於同時影響三種氨基酸的合成。此外，有很多例子說明，如果二種產物有一共同前體，這些產物可能不影響此一前體的生成，而各自抑制合成途徑分道以後的第一個反應。上述的例子無例外地說明生物體採取了符合經濟核算原則的控制方式，因為終點產物抑制的不是任何一個反應，而是不影響其他合成途徑的最早的一個反應，這樣就避免了不必要的浪費，也避免了要不得的干擾（圖1）。生物體有時採取另外一種避免干擾的方法，那就是由催化同一作用的不同酶種來合成不同物质的共同前體（圖2）。

應該指出，還存在一種反饋作用，在微生物身上反映得特別明顯，即生物合成的產物抑制合成途徑上有關酶的生成。這種抑制作用所造成的效果自然也是降低產物合成的速率，但是獲得這種效果的原因却是由於催化合成反應的那些酶減少了，而不是由於合成反應中的一種酶的作用受到了產物的抑制。對於酶生成的反饋作用時常牽涉到合成過程中的很多酶，而不是催化初期反應的一種酶。所以，終點產物對於酶作用的抑制和它對於酶生成的

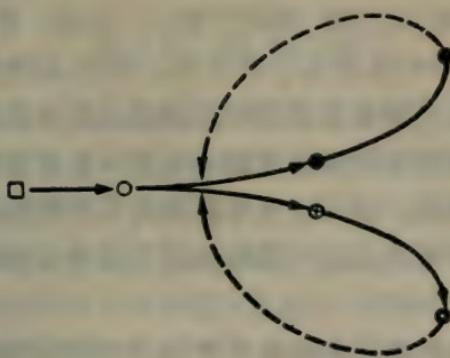


图1 合成途径上有共同前体的不同产物  
对前体生成后的反饋抑制

○为共同前体；●和○为二种不同产物

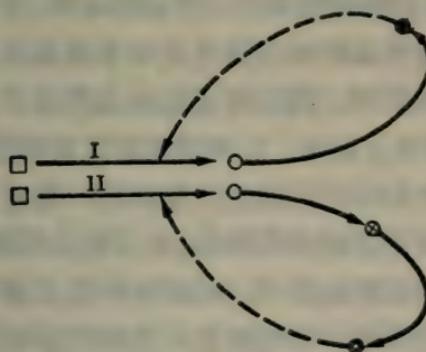


图2 合成途径上有共同前体的不同产物  
对前体生成前的反饋抑制

(反应I和II由不同的酶催化)。○为共同前体；●和○为二种不同产物

抑制构成双重的自动控制体系。这种安排的效果，不仅是合成終点产物的原料和所需能量可以节约下来，而是合成酶系所需的一切也可以节省下来；并且可以看到，生物体通过对于酶生成的控制可以更好地調节酶的含量，因而避免任何极端状态。

催化同一作用的不同酶种，看来是极为普遍的調節因素，因为除了上述合成代謝途径上的一些实例而外，已經发现很多的酶是以多种形式存在的。象酯酶、磷酸酯酶、己糖激酶、乳酸脫氢酶、苹果酸脫氢酶、谷氨酸脫氢酶、轉氨酶均經證明在同一生物体有不止

一种形式，少的有二、三种，多的达到六、七种。可以設想，这些所謂同工酶(isozyme)各有自己的任务。例如，动物体的五种乳酸脫氢酶已經知道为二种亚基按不同比數組成的四聚体，其中心肌含量最多的一种具有受丙酮酸抑制的性能，而骨骼肌含量最多的一种却沒有这种特征。这一區別可能和此二种肌組織的生理功能有密切关联。估計今后会进一步証实同工酶为生物体普遍应用的代謝調節方式。

这一切均属初級形式的調節作用，那就是根据简单的物理(結構、通透性等)和化学(催化、抑制等)的原則所获得的效果。在动物体内还存在另一种高一級的調節因素——激素的調節。激素很早就成为研究的对象，但是由于它們的影响較为复杂而往往是多方面的，又因为若干激素的本质一时未能闡明，不容易获得肯定的結果來說明它們的作用机制。随着近年来提取淨化工作的进展以及代謝途径的逐步闡明，激素研究很快地开展了。最近关于胰島素、肾上腺素、胰增血糖素、皮质激素的作用机制都有新的发展；肾上腺素在肝脏中的作用点似乎已經找到，是通过影响一种环化酶的活力而間接地促进糖元的降解，生成較多的葡萄糖，可以合理解释肾上腺素增加血糖的效果。脑垂体的促皮激素可能在肾上腺皮质中发生同样的作用。甲状腺素对于酶的影响各不相同，有些是被抑制的，也有些是被激活的；近来有人指出甲状腺素激活的酶，如琥珀酸脫氢酶， $\alpha$ 甘油磷酸氧化酶，和輔酶Ⅰ联系的异檸檬酸脫氢酶以及細胞色素都是具有降解功能的，而它所抑制的，如和輔酶Ⅱ联系的异檸檬酸脫氢酶等是具有合成功能的。这种情况符合甲状腺素的已知生理作用，搜集了更多的資料以后應該可以說明問題。上述现象为激素作用机制的研究提供綫索，如果激素的一般作用是这样的話，那就可以說它們采用了远点操纵和多面影响的控制方式，因此它們所控制的范围較大，影响較为深远。

无论細胞結構上的、反饋形式的、或者是激素的远点操纵和多面影响，都是开始露苗头的研究园地，今后将进入活跃阶段，迅速发展为代謝研究的主流。

## 五、比較代謝

从比較的观点出发进行的代謝研究工作是很少的，但是近年来发生的几件事說明比較观点已經获得重視，它們是：(1)Florkin 和 Mason 主編的著作《比較生物化学》的問世，(2)比較生理和生化學報的刊行(1959年創刊)，(3)国际生化會議举办昆虫生化討論会(第四届)和进化生化討論会(五届)。值得指出，有关不同生物的代謝資料从很早就在累积起来，可是提供这些資料的工作一般都不从比較观点出发。有的仅为材料方便或者因为有利于闡明某一問題，如常用實驗动物的代謝；有的从实际問題出发，如昆虫的代謝和农药的应用有关，寄生虫的代謝和疾病的預防及治疗有关；也有和工业有关的，如微生物代謝和发酵工业，次生物质的代謝和經濟作物等。这些来自各方的資料非常零碎而缺乏系統，如果能汇集起来从比較观点进行整理，是极有价值的，《比較生物化学》載有不少这类整理工作的結果。

近年来，由于工作上便利和实际意义极大的緣故，微生物的代謝已經成为很活跃的領域。仅就不同种的微生物之間已經找到很多代謝途径上的区别；有些代謝途径，象脫氧酮糖酸途径、乙醛酸途径、若干丙酮酸的降解途径，均为高等动物体内找不到的代謝方式，同时也在不同种微生物中表现很多差別。氨基酸的合成途径，也是这样，有些在合成的最后一、二步驟上表现差別，也有从头就采取了不同的路綫。事实上，研究較多的那些生物，都表现一些代謝上的特殊性；代謝方式的繁多，高等动物自不可能和它們同日而語，生物的异性在微生物身上体现得最为明显。

昆虫的生物化学，包括昆虫的代謝，是近年来吸引力較强、因而也是发展較为迅速的一个方面。昆虫的变态很早就引起了注意，这在一方面牵涉到激素的作用，另一方面关系到变态的特殊生化变化。昆虫的激素系統，和高等动物的有很大的差別，其中之一称蛻皮激素，已經能够自蚕蛹提取純淨物质，化学結構亦已基本解决，是一种多羟基的固醇类化合物，証明它有多种生理上的作用。

其他的如咽側體因素、返幼激素等，也是集中研究的對象，而這些激素對於昆蟲代謝的影響，將成為比較代謝的丰富領域。昆蟲的種類繁多，要探索到每個重要的科，已經不是輕易的事情；從少數種研究較多的昆蟲看來，可以斷言昆蟲的代謝和我們熟知的高等動物的代謝有很大的出入。很多種昆蟲的體液含有海藻糖，而葡萄糖的含量較少。它們一般缺乏乳酸脫氫酶，富於 $\alpha$ 甘油磷酸脫氫酶，說明為什麼乳酸的生成較少；估計這些情況和飛翔時的能量供應有關。昆蟲的類脂質代謝也有一些特點，它們似能直接利用脂肪酸作為飛翔的能源（候鳥可能也有這種能力）。它們一般需要食物中供應固醇，已經有證據說明它們缺乏合成固醇的多環核的能力，但是可以合成側鏈。同樣，在氨基酸和核苷酸的營養需要上和代謝方式上也都有些差別。此外，昆蟲對於除蟲藥物的降解代謝、有關的酶系、產生抗藥性的機制等亦已有不少資料。這方面的研究和農藥的應用以及新藥的設計有關，尋找高效的、對於人體毒性很少的藥物，需要昆蟲代謝的知識，已經有些好的成果，而今后的研究活動會與日俱增。

有關植物的代謝知識，向來落後於動物和微生物，但是近十多年的努力解決了二氣化碳進入植物以後的途徑問題，無可否認的這是極其重要的成果。關於光反應的機制，尤其是光合磷酸化的機制，最近有顯著的進展。在另一方面，若干種次生物質的合成途徑，象固醇、萜類、類胡蘿卜素、生物礦等，有的已經基本上解決了，有的肯定了若干重要步驟。總的說來，植物代謝的研究，已經出現迎頭趕上的趨勢。

值得提到，細胞分裂過程中的代謝活動、配合著個體發育各個階段的代謝、細胞分化的代謝等，都是極有興味的課題，近來研究的頗不乏人，正處在搜集數據和分析情況的時期，對酶的生成、蛋白質合成、核酸的影響等問題注意較多。同時，超級分子（supra-molecule）的結構和它們的形成過程亦已成為觀察的對象，這方面的知識，將有助於了解高級結構的形成機制，使我們有可能進入多分子綜合活動的代謝領域里去。

## 六、器官和組織的代謝

高等生物，特別是高等動物，都表現極高度的分化。各个器官，除一般的細胞代謝而外，另外都還有特征性的代謝。這些特征性的代謝往往和各个器官（或各个組織）的功能有密切關係。由於醫學上提出的要求，以往對於肝、腎、肌肉、血液的代謝注意較多，累積的資料也較為豐富。近年來隨著實驗方法上的進展，一些入手比較困難的材料，象某些腺體、腦、神經的代謝，也已經進行了研究。甲狀腺中激素的合成步驟以及腎上腺皮質和性腺的類固醇代謝，都是近年來的活躍園地。腦的代謝一向認為是個困難的課題，由於血腦屏障的關係腦的代謝率一般是很低的，但是同位素的標記實驗告訴我們氨基酸和蛋白質在腦內的轉換率是非常快的，其他的器官無法和它比擬。

若干一向認為主要功能是儲存或者是護體的組織，象脂肪和結締組織，亦已成為研究的對象。動物的脂肪組織具有旺盛的代謝，完全不是以往想像中的反應極為遲鈍的部位，它負有脂肪酸合成和脂肪酸供應站的任務，可以利用葡萄糖，也可以從脂肪酸和甘油磷酸合成甘油三酯。不同部位的相同組織，未嘗不可以有不同的代謝方式，肌組織就是一個很好的例子。心脏的肌肉、骨骼肌、平滑肌在糖代謝各個途徑的分布上均有所不同，反映在它們的酶活力和酶的性能。即使是同一塊肌組織，還是可以找到紅的肌肉和白的肌肉，紅肌富於線粒體而含有肌紅蛋白，似和持久的運動有直接的關係，而白肌則不然。怎樣能將各个器官和各種組織的代謝特徵和它們的功能聯繫起來將會是今後的一個研究重點。

## 七、不正常代謝

如果在同種的生物，發現和一般的代謝不同的代謝方式，稱為不正常的代謝。這種情況可以發生在：（1）有先天性代謝病的生物體，（2）一般病體，（3）處於藥物、射線、或者特殊氣壓、溫度等因素的影響下的生物體。

先天性代谢病的研究发源极早，这些研究曾经对于若干物质的代谢途径提供线索。近年来由于技术上的进展又发现很多种的先天性代谢病，其中有很大一部分属于分子的病。有的是分子结构不正常，因而造成不能进行正常功能活动的现象；有的是由于重要物质（如酶）缺乏或过多所引起的病。近来发现的若干种不正常血红蛋白质分子所造成的贫血症乃分子自身结构的问题，而γ球蛋白缺乏症、糖元堆积症、若干种氨基酸的代谢障碍症均属缺乏重要因素的问题。很多这类的病是可以遗传的。

疾病，尤其是慢性疾病，在代谢上反映的变化，也是近来研究较多的问题。最突出的要推肿瘤自身及宿主的代谢和若干种肝脏及血液疾病以及内分泌不正常、营养缺乏等情况下的代谢。不可否认，我们在这些方面积累了不少的知识；关于酶的变化、代谢物的增减、特征性物质的出现及其排出情况等方面的数据尤其丰富。这些知识，也有已经反映在检验疾病的方法上或治疗措施上。正常代谢和病理代谢的研究是相互推动的，有利于医学的进展。

随着工业的进展和生活的现代化，各种化学的（药物、毒物）和物理的（射线、温度、气压等）因素对于代谢的影响逐渐地成为重要的课题。就化学因素来说，还有化学物质（药物等）自身的代谢过程，是需要知道的；这必然和它们对机体的影响有关。药物、毒物的代谢研究开展较早；已经积累了较多的资料，对于寻找和设计新药物的工作起了一定作用。代谢知识的增进会在今后增加这类工作的预见性。物理因素的影响研究得较少，但近年来发展甚速，有大量的工作针对着各种射线的影响、它们的为害原因和它们所引起的原始反应；但是圆满地说明问题则还有待于今后的努力。

## 八、一点展望

综观上述代谢研究在各方面的发展，可以认识到它正在从一个分析的阶段进入综合的阶段，从离体的观察逐渐转入活体或整体的观察，从阐明代谢途径为重点转到研究代谢调节和控制为主流。回忆过去的三十年，代谢知识所以能够以史无前例的速度积

累起来應該归功于一些新的技术，其中值得特別推崇的为同位元素标记技术和各种类型的分析和分离技术。可以指出，整个生物化学学科的进展很生动地显现了技术和方法推动学科的力量，但是我們不难看出现代技术在解决代謝的調節控制机制以及使代謝知識放回到整体去的重大問題上还不能起决定性的作用。除了繼續提高同位素应用技术和加强实验室自动化以外，必須創造更高水平的实验方法，方才有希望突破认识生物的最后一关。

# 脂质代谢的进展

王 克 勤

(中国医学科学院实验医学研究所生物化学系)

## 一、緒 言

机体内的脂质可分为三大类：（一）简单的脂质：包括各种脂肪酸和胆固醇。（二）复合脂质：包括甘油三酯、磷酯和胆固醇酯等。（三）脂蛋白：即各种简单和复合脂质与蛋白质结合的复合体。包括血清中的各种脂蛋白和细胞中的脂蛋白。脂蛋白由于它具有蛋白质的性质，有时也将它归纳入蛋白质中，为结合蛋白质之一。

关于脂质代谢的研究从若干年来都停滞不前，虽早在本世纪初 Knoop 氏就提出脂肪酸的  $\beta$  氧化途径，但其中间产物和氧化机制直到 1953 年用了同位素的示踪方法才得以全部解决和证实。十余年前学者们对脂质代谢未感到应有的兴趣和重视，其原因之一可能是由于绝大部分脂质是不能溶解于水，而且是不稳定的化合物。此外在分离的方法上亦存在许多困难。但近十余年来，一方面由于各种层析方法的发展，尤其是气相层析和矽酸的层析， $C^{14}$ 、 $H^2$ 、 $H^3$  标记化合物的使用，细胞器的分离和可溶性酶系及纯酶的分离，超速离心机的使用等，均给予脂质代谢的研究以有力的条件。另一方面由于发现脂质代谢可能与许多代谢疾病有关，例如动脉粥样硬化症、糖尿病、黄色瘤、原发性高脂血症和高胆固醇症等，特别是危害人们健康最严重的冠状动脉粥样硬化症。此外亦由于脂质是细胞结构中不可缺少的组成部分，欲了解各种物质在机体内代谢的相互关系，均须对脂质代谢有全面和深入的了解。由于上述种种原因使许多学者们对于脂质代谢产生了很大的兴趣，因而在近十余年来，在脂质代谢的各个方面，都有了进展，涌现出

許多新的研究成果。除了在生物化学及其他有关的杂志发表以外，自从 1960 年开始，脂质的研究已經有了专门的杂志《J. Lipid Research》来刊載这方面的新成就。

本文仅就目前各种脂质代谢研究的概况和存在的問題作简单的介紹；另外还拟比較詳細地介紹脂肪酸的生物合成的机制問題。

## 二、脂质代谢研究的概况

### (一) 简单脂质的代谢

这方面的进展比較快，在胆固醇的生物合成方面，由于 Bloch、Papják、Cornforth、Bücher、Rudney、Siperstein 等以及其他作者的不断努力，到目前为止，关于胆固醇生物合成的途径、所需酶系統、在細胞內合成的部位、合成的机制以及控制的环节，差不多已全部搞清；只在某些合成机制的細节上尚需进一步研究。茲簡述如下：

在 1956 年以前只知道鲨烯为合成胆固醇的重要中間产物。关于合成的机制主要环繞着鲨烯的成环及寻找由鲨烯到胆固醇的中間产物等問題，目前此問題已得到解决。自 1956 年 Tavormina 发现了 C<sup>14</sup>-2-3-甲基，3,5 二羟基戊酸 (MVA=3-methyl-3,5 dihydroxyvaleric acid, 或 Mevaldic acid) 可以大量地并合入胆固醇分子后，找到了胆固醇合成中的第二个主要中間产物，胆固醇生物合成的研究則主要以 MVA 为中心。关于由醋酸如何形成 MVA 以及 MVA 又如何形成鲨烯的研究迅速地展开起来。由 MVA 至胆固醇的合成途径近年来已获得了解决。肯定 10 碳的风呂醇磷酸酯和 15 碳的姜草醇磷酸酯为其中的中間产物。仅在鲨烯的形成机制上还存在着一些爭論。由于此阶段与其他代谢关系不大，在此不作詳細介紹，仅就醋酸形成 MVA 的机制略介紹如下：

近年来，Rudney 和其共同工作者比較深入和細致地研究了 3-甲基，3 羟基戊二酸单酰輔酶 A (HMGCoA) 的合成及其形成 MVA 的机制 (图 1)。首先发现合成的酶系統存在于細胞的微粒

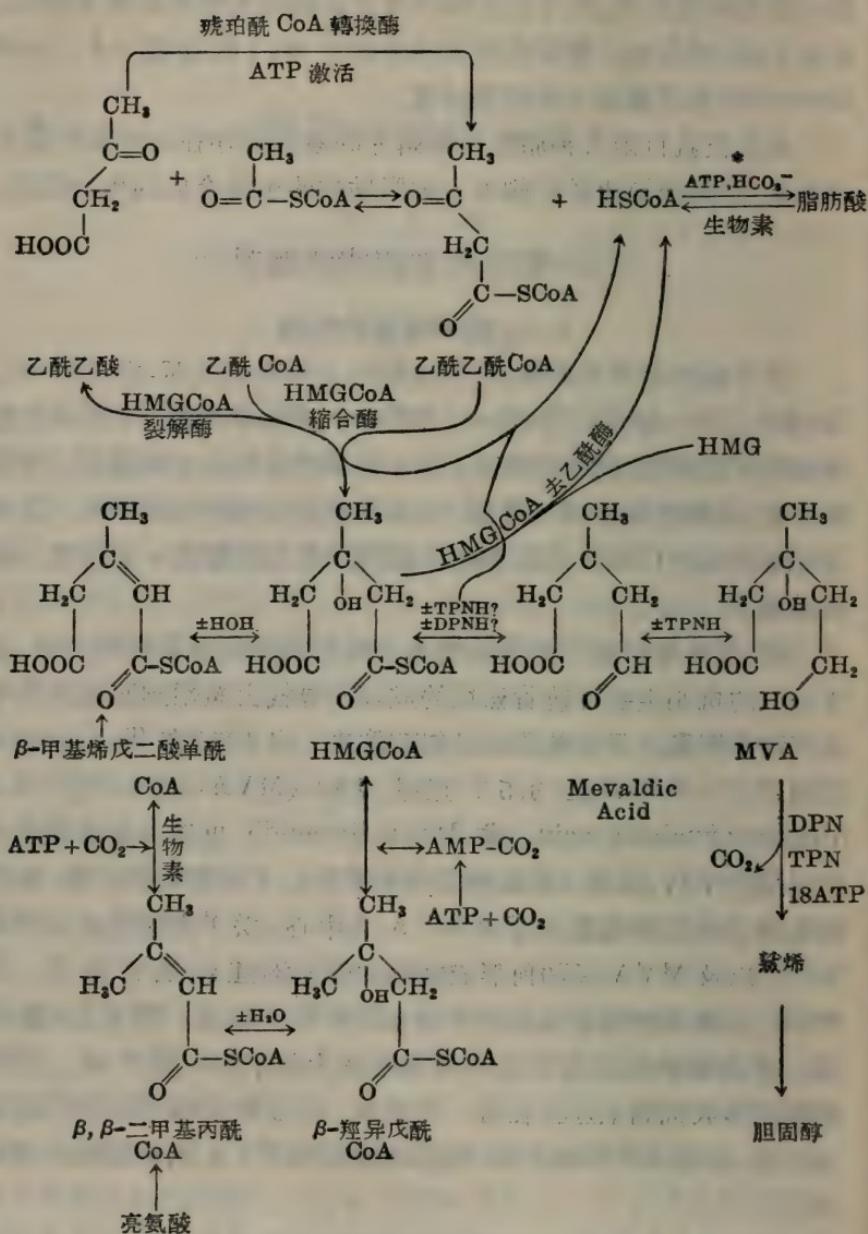


图 1 HMGCoA 的合成及其与其他支链化合物  
和胆固醇合成的相互关系图

\* 乙酰乙酸转化为脂肪酸的途径存在与否尚未肯定

体和上清液，而不存在于线粒体中。其次，发现醋酸需激活为乙酰 CoA 方能参加反应。二分子乙酰 CoA 缩合后的产物为乙酰乙酰 CoA，而不是自由的乙酰乙酸。乙酰乙酰 CoA 与另一分子乙酰 CoA 在 HMGCoA 缩合酶的作用下形成 HMGCoA。并以层析方法鉴定其为 HMGCoA，而不是自由的 HMG。此外，还发现 HMGCoA 亦可为其他的支链的化合物所形成。一个途径为由  $\beta$ -羟基异戊酸借  $\text{CO}_2$  的固定而形成。另一途径系由亮氨酸分解为  $\beta$ ， $\beta$ -二甲基丙酰 CoA，再借  $\text{CO}_2$  的固定形成  $\beta$ -甲基  $\alpha,\beta$ -烯戊二酸单酰 CoA。后者加水则形成 HMGCoA。乙酰乙酰 CoA 与乙酰 CoA 的缩合反应似乎是不可逆的。但当 HMGCoA 形成后，在体内可走三条不同的途径进入代谢：(1) 在 HMGCoA 还原酶的作用下被 TPNH 还原为 MVA。(2) 被 HMGCoA 裂解酶分解为乙酰乙酸和乙酰 CoA，再进入二碳团的代谢及酮体的形成。(3) 被 HMGCoA 脱乙酰酶分解为自由的 HMG 和 HSCoA。但 Lynen 等发现 HMGCoA 转变成 MVA 的反应是利于合成的，HMGCoA 几乎全部转变为 MVA。这对于体内胆固醇的生物合成有着重要的意义。至于由 HMGCoA 合成 MVA 时是否还存在其他的中间产物，尚不十分肯定。其中可能还须经过 3-羟基 3-甲基戊醛酸 (3-Hydroxy 3-methyl Mevaldic acid)。Rudney 等并建议由醋酸合成 MVA 阶段中的某一个反应是控制胆固醇合成的速度的环节。

自胆固醇的途径得到阐明后，体内胆固醇合成的速度的控制是近年来研究者们颇感兴趣的問題。胆固醇的合成速度受膳食中胆固醇含量的影响是早已知道的事实，但其控制的环节到近年才弄清楚：Büchev 等应用不同的因素引起胆固醇合成的改变，发现不管是抑制或促进的因素都只影响由醋酸  $\rightarrow$  MVA，醋酸  $\rightarrow$  烯烃及醋酸  $\rightarrow$  胆固酇，而不影响 MVA  $\rightarrow$  烯烃，MVA  $\rightarrow$  胆固酇或烯烃  $\rightarrow$  胆固酇。因此认为醋酸  $\rightarrow$  MVA 是控制胆固醇合成速度的阶段。最近 Siperstein 等又进一步研究了控制合成速度的具体环节。証明了为 HMGCoA 形成 MVA 的反应。証实了

Rudney 的想法。从細胞的經濟学来看，这一反应的确是細胞自动控制胆固醇合成的最适当的场所。因为如控制在 HMGCoA 以前(图 2)，則必然影响其他物质的代謝，例如脂肪酸的合成、酮体的形成等，如在 HMGCoA 轉变为 MVA 以后，则有不需要的代謝中間产物堆积，尤其是环状化合物。由于胆固醇的代謝与动脉粥样硬化有密切的关系，如何有效地控制其合成速度，将是药学家和生物化学家感到有兴趣的問題。看来更深入的了解 HMGCoA 形成 MVA 的机制，HMGCoA 在体内代謝的情况，以及这些反应所需酶的性质的了解将是有希望的途径之一。

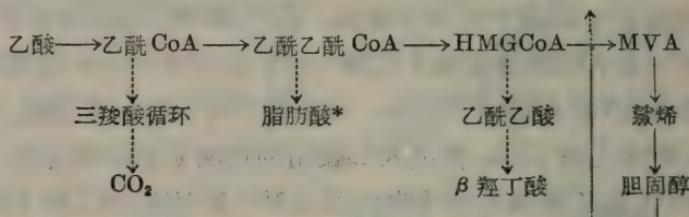


图 2 胆固醇对胆固醇合成反馈控制的环节

\* 见图 1 注解

脂肪酸的代謝方面：关于它的 $\beta$  氧化途径和机制在 1953 年左右已全部弄清楚，它所需的酶系統亦全部提純。目前的研究主要是解决脂肪酸生物合成的途径和机制以及控制的环节，关于它的生物合成途径已大致了解，但对其合成机制尚不十分清楚，正是目前研究的中心和爭論的焦点。它的調節机制的研究則刚刚开始，已得到了一些有意义的結果。其合成速度亦受其最終产物脂肪酸的影响。但影响的环节不太清楚，因此脂肪酸合成的途径获得解决后，它的調節机制将成为学者們研究的重要課題。

## (二) 复合脂质的代謝

磷脂是含有磷的脂质的总称，目前了解主要有六种：即胆碱磷脂、胆胺磷脂、絲氨酸磷脂、肌醇磷脂、縮醛磷脂及神經磷脂。关于它们的生物合成在 1956 年以前知道的非常少。直到 Kornberg 和 Pricer 发现了磷脂酸，并肯定其在复合脂质生物合成中的重要

作用，以及 1956 年 Kennedy 等发现胞嘧啶核苷二磷酸胆碱是胆碱磷脂生物合成中的重要中间产物，磷脂的生物合成途径的研究遂有了惊人的进展。首先弄清了胆碱磷脂的生物合成主要是按下面的途径进行(图 3)：

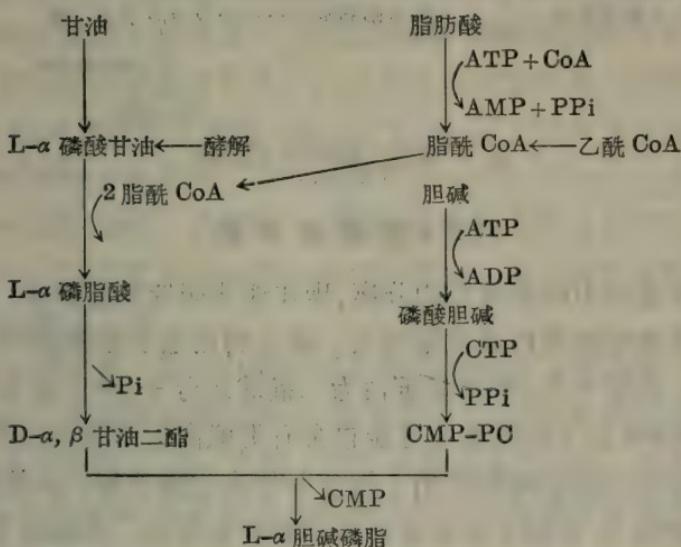


图 3 胆碱磷脂合成的途径

图中 CMP 代表胞嘧啶一磷酸核苷

CTP 代表胞嘧啶三磷酸核苷

PC 代表磷酸胆碱

学者们推测胆胺磷脂和丝氨酸磷脂的合成亦基本上按胆碱磷脂的途径进行，前者已得到了证实，但后者尚存在一些争论，估计不久即将获得解决。其他磷脂合成的途径的轮廓亦基本上弄清。至于甘油三酯的生物合成途径自肯定磷脂酸为重要的中间产物以后，就很快的得到解决。磷脂酸脱去磷酸形成  $D-\alpha, \beta$  甘油二酯， $D-\alpha, \beta$  甘油二酯再与一分子脂酰 CoA 缩合即形成甘油三酯(图 4)。关于它们的调节机制和调节环节则研究得较少。由于甘油三酯和磷脂的合成在磷脂酸的前一阶段都相同，此后何种因素控制磷脂酸进入磷脂的合成抑进入甘油三酯的生物合成，知道的尚不十分清楚，推测磷脂酸中的脂肪酸的性质(饱和脂肪酸或未饱和

脂肪酸)可能对其所进行的合成途径有很大的影响。关于胆固醇的酯化問題亦研究的不多,它的調節机制則知道的更少,这些将是复合脂质代謝中研究的課題。

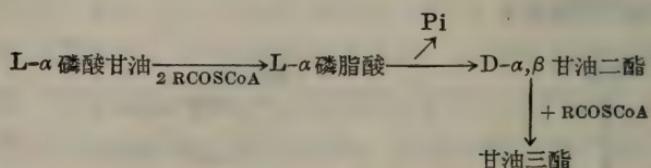


图4 甘油三酯的合成途径

### (三) 脂蛋白方面

对于血清中的脂蛋白的分离、理化性质研究的比较多，尤其是其中的低密度脂蛋白或 $\beta$ 脂蛋白，最近利用电子显微镜和光散射的方法已确定 $S_f 3-9$ 的 $\beta$ 脂蛋白为一椭球形分子，分子量为 $3 \times 10^5$ 左右。 $S_f 400$ 以上的脂蛋白可能包含有类似高密度脂蛋白的亚基。因此在脂蛋白脂肪酶的作用下将其中甘油三酯分解，而使脂蛋白逐级降解为 $S_f$ 值较小的脂蛋白或高密度脂蛋白。其结构究竟如何？其中脂质与蛋白部分究竟如何排列和结合还知道不清楚。需要创造一些巧妙的方法来研究。最近某些学者将脂蛋白中的脂质以有机溶剂在低温中提取，获得不含脂质的蛋白质，然后再研究其与脂质结合的情况，这可能是研究脂质与蛋白质相互的反应很好的一条途径。此外发现血清中的各种低密度脂蛋白有相似的免疫性，用同位素示踪的方法亦发现 $S_f 400$ 的低密度脂蛋白可以转变为 $S_f 20$ 或 $S_f 3-9$ 的脂蛋白，但反之则不能，说明低密度脂蛋白的蛋白部分可能是相似的，仅在脂质的含量上有所差异。但由分析这些脂蛋白的末端氨基酸来看，不同 $S_f$ 值的脂蛋白有不同的末端氨基酸，因此不能确定它们的蛋白部分是否完全相同，需进一步加以研究。

血清脂蛋白的主要功能是对于各种脂质的运轉，清蛋白能与长鏈的饱和脂肪酸結合，它是携带这些非酯化脂肪酸的主要工具。 $\alpha$  和  $\beta$  脂蛋白則負責胆固醇、甘油三酯、磷脂及酯化脂肪酸的运

轉。大分子的低密度脂蛋白——乳糜微粒則主要負責外源性的甘油三酯的運轉。但是關於它們的運轉機制尚知道得很少。至於它的生物合成，則剛剛開始研究，目前已初步了解其蛋白部分亦在肝臟合成，合成後的蛋白質如何與脂質結合而形成複合分子則研究的不多。至於它的調節機制則一無所知，應該是今后研究的課題。

至於細胞中的脂蛋白，例如細胞膜、線粒體和微粒體的脂蛋白的性質和結構則知道的更少，雖然已知道它們是與細胞膜的滲透作用、線粒體的氧化磷酸化和電子傳遞，以及微粒體中蛋白質的生物合成有密切的關係。此外神經鞘(myelin sheath)、光接受器如植物中的葉綠素、視網膜中的圓柱結構均為脂蛋白所組成。它們的結構對這些器官的功能有密切的關係。但目前對這些脂質的代謝知道得還不多。

總的說來，脂蛋白的研究不如其他脂質進展迅速。其原因可能是由於它的性質最不穩定，極不易保存，即使是冰凍或冰凍乾燥亦能使其變性，此外，它們一般都是很大複合分子，研究起來很不方便，不易處理；因此還須尋找更巧妙的方法來研究脂蛋白。

### 三、脂肪酸的生物合成的机制

自从脂肪酸降解弄清楚以后，許多学者的注意力都集中于脂肪酸的生物合成。由于脂肪酸循环中的每一反应为可逆的，1953年 Lynen 首先提出它的生物合成可能是  $\beta$  氧化的逆反应的假說(图 5)；但許多学者实际应用純酶系統来进行脂肪酸的生物合成，都不能获得长鏈的脂肪酸，只有 4 碳与 6 碳脂肪酸的合成。其原因之一可能是  $\beta$  氧化循环的最后一个反应是不利于合成的，因为在中性的 pH 該反应的反应常数为  $1.6 \times 10^{-5}$ 。1955 年 Longdon 由大鼠肝細胞的上清液发现一新的酶，在 TPNH 和还原型的輔酶 A 的存在下可将烯丁酰輔酶 A 轉变为丁酰輔酶 A。以后 Seubert 等又于猪肝細胞提純該酶，发现它的催化范围頗广，对 C<sub>4</sub>—C<sub>16</sub> 的烯脂酰輔酶 A 都有催化作用。随后用此酶及  $\beta$  氧化反应中的其他酶系及 TPNH 和 DPNH 的存在下自乙酰輔酶 A 及 C<sub>6</sub> 脂酰輔

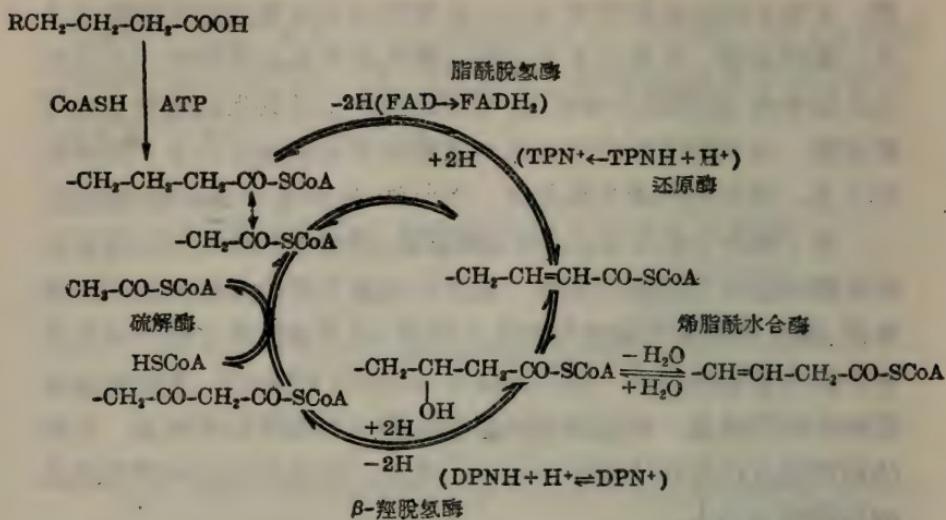


图5 脂肪酸循环

酶 A 合成了 C<sub>8</sub> 脂酰辅酶 A 及 C<sub>10</sub> 脂酰辅酶 A，但是 C<sub>16</sub> 脂酰和 C<sub>18</sub> 脂酰辅酶 A 的含量则较少，说明这一途径在体内不可能是长链脂肪酸合成的主要途径。

近年来某些学者认为有必要来重新考虑脂肪酸的生物合成是否是简单的  $\beta$  氧化的逆反应。目前关于脂肪酸的生成合成的研究主要分两条路綫进行，(一) 线粒体系統：因所有的酶存在于线粒体中。(二) 非线粒体系統：所有的酶存在于細胞的上清液部分。

### (一) 线粒体系統

Stump 及其同工作者与 Wakil 及其同工作者均分别报告了线粒体系統可以合成长链的脂肪酸。前者用鵝梨的线粒体，后者用鸽、大鼠肝的线粒体，該反应需要 TPNH, DPNH, ATP 等輔因子的参加，在无氧条件下进行，其代谢产物主要为硬脂酸，其余为软脂酸，14 碳及 12 碳饱和脂肪酸及油酸。此与非线粒体系統不同，非线粒体系統的主要产物为软脂酸（占 80%以上）。不同长链脂肪酸的存在对說明线粒体系統的合成机制非常重要。Wakil 等认为該系統主要是脂肪酸碳鏈的延长，而不是真正的新合成。硬

脂酸的合成可能是已存在的軟脂酸加上一分子乙酰 CoA 延長的結果。为了証明这一点，Wakil 等用中等長鏈的脂肪酸（例如 C<sub>8</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>12</sub> 和 C<sub>14</sub> 等）与 C<sup>14</sup>-1-乙酰 CoA 及綫粒体酶系統一起保温，結果都得到了多二个碳的長鏈脂肪酸，即 C<sub>10</sub>、C<sub>12</sub>、C<sub>14</sub>、C<sub>16</sub> 和 C<sub>18</sub> 脂肪酸，其放射性的强度为 C<sup>14</sup>-1-乙酰CoA 的 80% 左右，他們提出軟脂酸合成硬脂酸的途径如下：

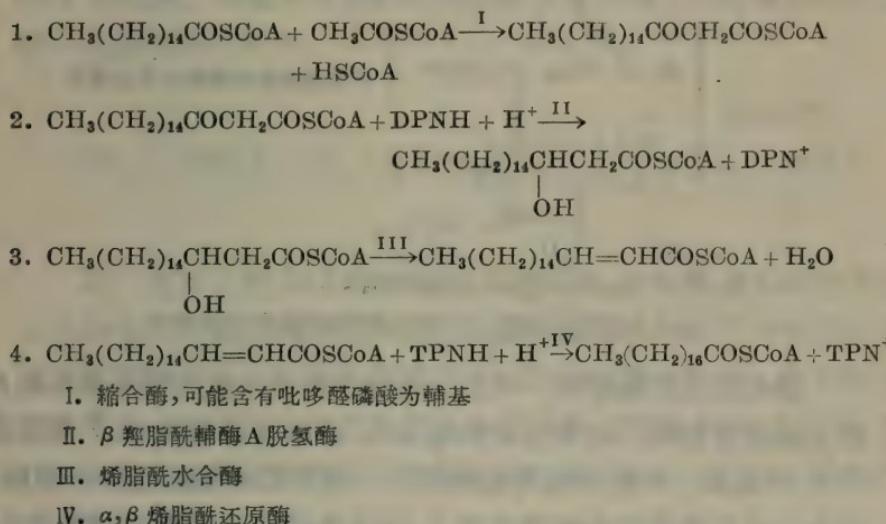


图 6 軟脂酸延长形成硬脂酸的机制

Wakil 等还发现自綫粒体提出的可溶酶系統，其活性可以被透析再用活性碳吸附而丧失，又可被中等長鏈脂肪酸和吡哆醛或吡哆胺磷酸而恢复。因此认为吡哆醛磷酸盐在以上反应中有一定的作用。目前推測它可能与第一步的縮合反应有关，这样有下面的一些优点：(一)可以不需要硫解酶的参与，因为用硫解酶有两个缺点：①如上述硫解酶的反应是不利于合成，反应常数在 pH 7.6 时非常之低。②該酶易于催化二个乙酰 CoA 进行縮合，假如用吡哆醛或吡哆胺磷酸来代替則可使反应特异地利于縮合的方向进行。(二)它們还可以与乙酰 CoA 形成一种 Schiff 氏碱的复合物。这样可能激活乙酰 CoA 的甲基带有阳电荷以便与略带阴电荷的脂酰 CoA 的羧基縮合而形成多二个碳原子的長鏈脂酰 CoA(图 7)。

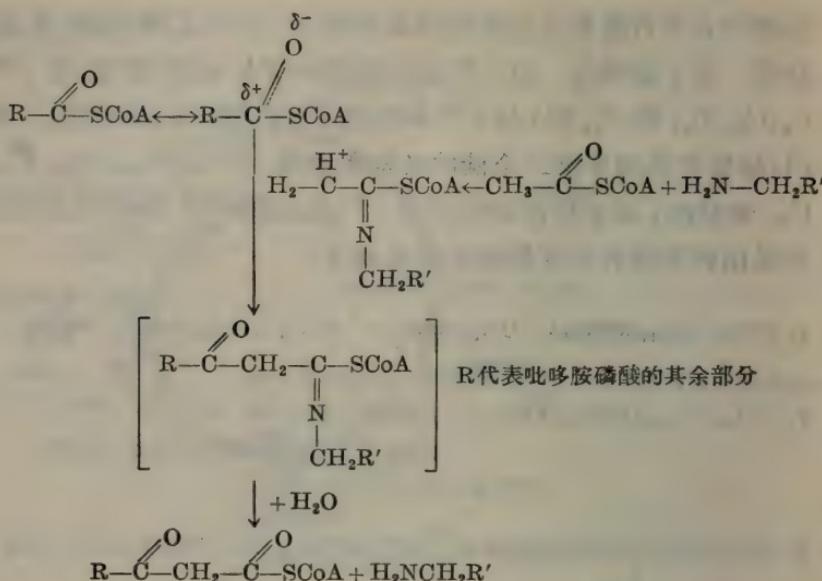


图 7 吡哆胺磷酸对于延长脂肪酸的作用假想图

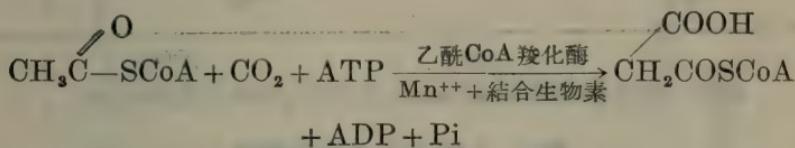
根据以上实验结果，可以认为线粒体内  $\beta$  氧化酶系统不能合成长链的脂肪酸。必需有新的酶参与，已经肯定的为  $\alpha, \beta$  烯脂酰 CoA 还原酶。可能还需其他辅因子，例如吡哆醛或吡哆胺磷酸。这种合成主要是脂肪酸链的延长，而不是新的长链脂肪酸的合成。

## (二) 非线粒体系统

此系统早在 1950 年即被 Gurin 和 Brady 所发现，证明肝细胞上清液可以由醋酸合成长链的脂肪酸，并发现 ATP, CO<sub>2</sub>, Mg<sup>++</sup> 及柠檬酸有促进作用，但当时未得到应有的重视。1957 年 Wakil 等亦从鸽肝细胞的上清液分离出一酶系统，可以由乙酰 CoA 合成软脂酸，而不含有  $\beta$  氧化逆反应所需的主要的酶—— $\beta$  烯脂酰还原酶。此后不同的学者又从酵母、细菌、昆虫、植物、乳腺以及其他组织分离出相似的酶系统，说明该系统普遍存在于各种细胞中。为了进一步对该酶系性质的研究，Wakil 等以不同饱和度的硫酸铵分段沉淀上清液的酶系，获得了二个蛋白部分。发现此二部分的酶均参与脂肪酸的合成，此外还绝对需要 Mn<sup>++</sup>、ATP、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 和

TPNH 等輔因子。 $\text{HCO}_3^-$ 是絕對需要的，但  $\text{C}^{14}$  标記的  $\text{HCO}_3^-$  并不併合到脂肪酸分子中，說明其作用為接觸作用。

Wakil 等又用層析等方法進一步將以上二部分的酶系統提純，稱為  $R_{1gc}$  與  $R_{2gc}$ 。以  $R_{1gc}$  與乙酰 CoA、 $\text{HCO}_3^-$  及 ATP 一同保溫，分離出反應中的第一個中間產物，並以層析方法及其衍生物的熔點的測定，鑑定此產物為丙二酸單酰 CoA。稱該酶為乙酰 CoA 羧化酶，於是可將脂肪酸的生物合成分為二個階段來研究。第一階段的反應如下：



進一步對乙酰 CoA 羧化酶性質的研究，發現其中含有相當量的生物素，且與其結合非常牢固，只有在酸的水解和蛋白酶的消化下方能釋放。加入抗生素蛋白可以抑制該酶的作用，假設預先加生物素與其中抗生素蛋白結合則後者對該酶失去了抑制作用。說明生物素與此酶的活性有非常密切的關係，對  $\text{CO}_2$  的利用有重要的影響。

Lynen 等對於此酶亦進行了研究，得到了相似的結果，並根據他們以往研究含生物素酶的經驗，提出乙酰 CoA 羧化酶的作用機制如下（圖 8）。

雖然由非線粒體系統催化的脂肪酸生物合成途徑的第一個中間產物為丙二酰 CoA 已經確定，但以上反應是否是形成丙二酰 CoA 的唯一途徑尚值得考慮。此外已發現二羧與三羧酸對於丙二酸的合成有促進作用，其中以異檸檬酸為最大，而丙二酸的作用只有它的一半，它們的作用機制如何尚需進一步研究，顯然不能以供  $\text{CO}_2$  和 TPNH 來解釋。目前有些跡象表明它們可能影響了酶的結構。

脂肪酸的合成的第二階段是使丙二酰 CoA 與乙酰 CoA 在 TPNH 及  $R_{2gc}$  酶的存在下轉變為軟脂酸。許多作者的工作都証

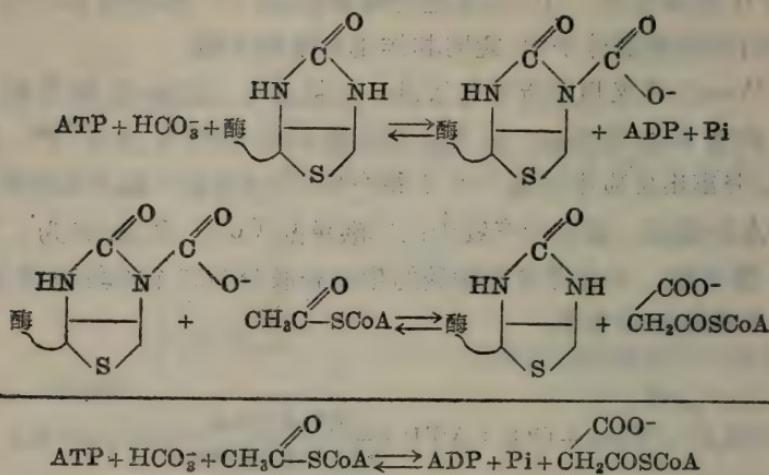
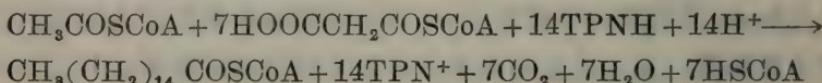


图 8 乙酰 CoA 的羧化机制

它的总的反应方程式如下：



并肯定丙二酰 CoA 是供给二碳单位的缩合之用，形成软脂酸分子中的 1~14 号碳原子。而乙酰 CoA 主要作为缩合的触发物 (primer) 之用，仅供供给软脂酸分子中的第 15~16 个碳原子，如图 9。

但是丙二酰 CoA 与乙酰 CoA 在酶的作用下如何合成软脂酸的机制尚不十分清楚。不同的学者根据自己的实验结果提出了不同的假说，兹将两种主要的假说分述如下：

(1) Wakil 等的假说 他们发现丙二酰 CoA 可以代替乙酰 CoA 与丙二酰 CoA 缩合形成奇数的长链脂肪酸 (17 碳脂肪酸)，较长的脂酰 CoA，如丁酰 CoA 则较差，己酰 CoA 与更高的脂酰 CoA 则完全不能代替。此外如烯丁酰 CoA，β-羟丁酰 CoA 等脂肪酸氧化过程中的中间产物均不能代替乙酰 CoA，无触发作用。因此 Wakil 等认为以上化合物不是由丙二酰辅酶 A 途径合成脂肪酸的中间产物。提出由丙二酰 CoA 合成脂肪酸的机制如下 (图 10)。

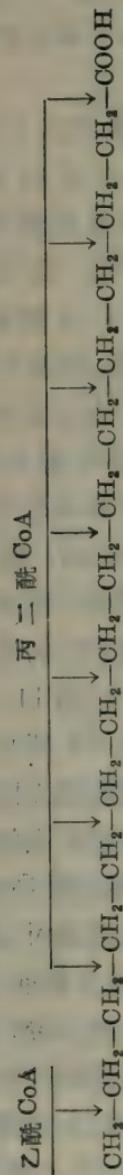


图 9 软脂酸中碳原子来源

1.  $\text{CH}_3\text{COSCoA} + \text{CH}_3\overset{\text{COOH}}{\underset{\diagup}{\text{COSCoA}}} \longrightarrow$
2.  $[\text{CH}_3\text{COCH}(\text{COOH})\text{COSCoA}] \xrightarrow{\text{TPNH}}$
3.  $\text{CH}_3\text{CHOHCH}(\text{COOH})\text{COSCoA} \xrightarrow{-\text{H}_2\text{O}}$
4.  $\text{CH}_3\text{CH}=\text{C}(\text{COOH})\text{COSCoA} \xrightarrow{\text{TPNH}}$
5.  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{COOH})\text{COSCoA} \longrightarrow [\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COSCoA} + \text{CO}_2]$

图 10 Wakili 等关于脂肪酸合成机制的假說

乙酰 CoA 与丙二酰 CoA 缩合形成一五碳中间产物，该五碳化合物经 TPNH 还原、脱水、再还原，最后脱羧而形成丁酰 CoA。该丁酰 CoA 再与一分子丙二酰 CoA 缩合，重复以上步骤而形成己酰 CoA，即每重复一次，可以增加二个碳原子，最后形成软脂酰 CoA。

(2) **Lynen 等的假说** Lynen 等认为经丙二酸途径合成脂肪酸的优点在于有  $\text{CO}_2$  的释放，可使反应有利于合成的途径，Wakil 等提出的假说虽然符合以上实验的结果，但从能量来看，最后才脱羧释放  $\text{CO}_2$ ，似乎对合成反应没有什么好处，因此认为这是 Wakil 等假说的最大缺点。Lynen 等由酵母中分离的酶，亦可以催化由丙二酰 CoA 与乙酰 CoA 合成脂肪酸，提纯后称为“合成酶”，并对其性质进行研究。发现脂肪酸的生物合成可以被那些束缚-SH 基的化合物所抑制，而被那些保护-SH 基的化合物如胱氨酸或谷胱甘肽所促进。因此认为“合成酶”本身含有-SH 基，而且它是酶触反应所必需。脂肪酸的合成机制是将丙二酰 CoA 的脂酰部分直接传递给酶的-SH 基而形成一种复合体。这种看法亦与有些学者们不能由反应过程中分离出任何中间产物的事实相符。他们提出由丙二酰 CoA 合成脂肪酸的机制如下(图 11)。

这一反应的特点：(1)合成反应一开始丙二酰 CoA 即与“合成酶”结合，然后再与脂酰 CoA 缩合，在缩合反应时脱羧亦同时进行，于是释放了  $\text{CO}_2$  可以促使反应走合成的途径。(2)反应的第二步的中间产物为  $\beta$  酮脂酰——酶的复合体，而非  $\beta$  酮脂酰 CoA，这一点从合成的观点亦非常重要，因为假如不是如此，则由丙二酰脱羧所获得的有利条件将被硫解酶对乙酰乙酰 CoA 的水解而丢失。从以上反应可以看出长链脂肪酸的合成是重复以上的步骤，每重复一次可以增加一个二碳单位。新产生的多一个二碳单位的脂酰 CoA 又可与一分子丙二酰——酶的复合体缩合，按以上步骤重复下去而形成了长链的脂肪酸。在延长的反应中脂酰—S—酶的复合体不一定转变为脂酰 CoA 即可参与循环反应与另一丙二酰—S—酶缩合，假设在酶分子中的活性中心含有一个以上的一SH

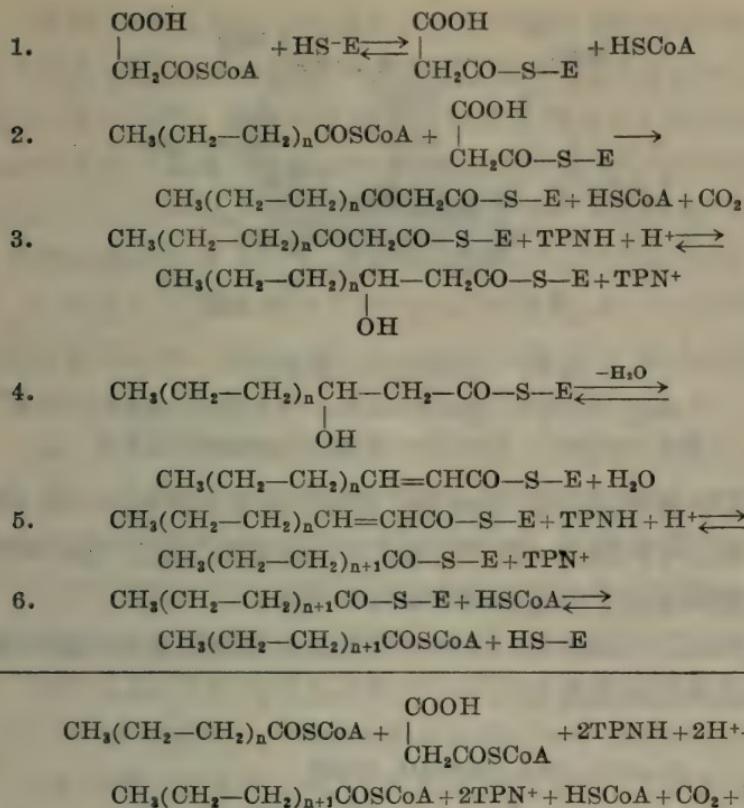


图 11 Lynen 关于脂肪酸合成的机制的假說 (E 代表酶)

基, 則不經脂酰 CoA 的中間步驟也是完全可能的。

為了證明他們的假設是正確的,Lynen 等分離出  $\beta$ -酮脂酰——酶的複合體, 为了闡明“合成酶”是具有多種酶作用, 研究了“合成酶”的理化性質, 并以 N-乙酰胱氨酸和 Pantetheine 来代替 CoA 来研究該酶催化的反應。发现在自由电泳和超速离心沉降都呈现单一峰, 能催化轉递、縮合、还原和脫水等反應, 同时还发现其中含有核黃素单核苷为輔基。根据以上的實驗結果, Lynen 等提出“合成酶”的結構的初步看法(图 12)。“合成酶”是六种不同酶環繞—SH 基的功能团排列着。而該功能基团是与脂肪酸合成中間步驟的化合物緊密地結合, 又與其中組成酶的活性中心非常接近。

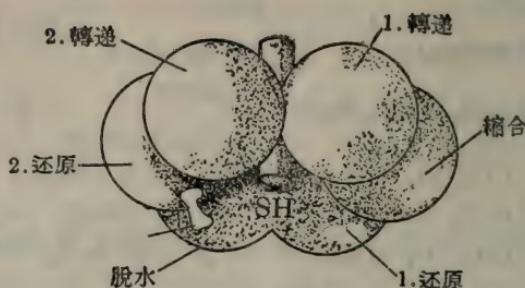


图 12 合成酶的结构假想图

1. 转递——反应 1 缩合——反应 2 1. 还原——反应 3  
脱水——反应 4 2. 还原——反应 5 2. 转递——反应 6

以上结构可以说明“合成酶”在理化性质上表现为一单一体，而在功能上可以催化一系列的有秩序的连续的反应，它的多种触酶活性以及没有自由的中间产物的存在等。

综合以上实验结果，Lynen 等又提出多酶复合体的脂肪酸的合成的反应机制如图 13。

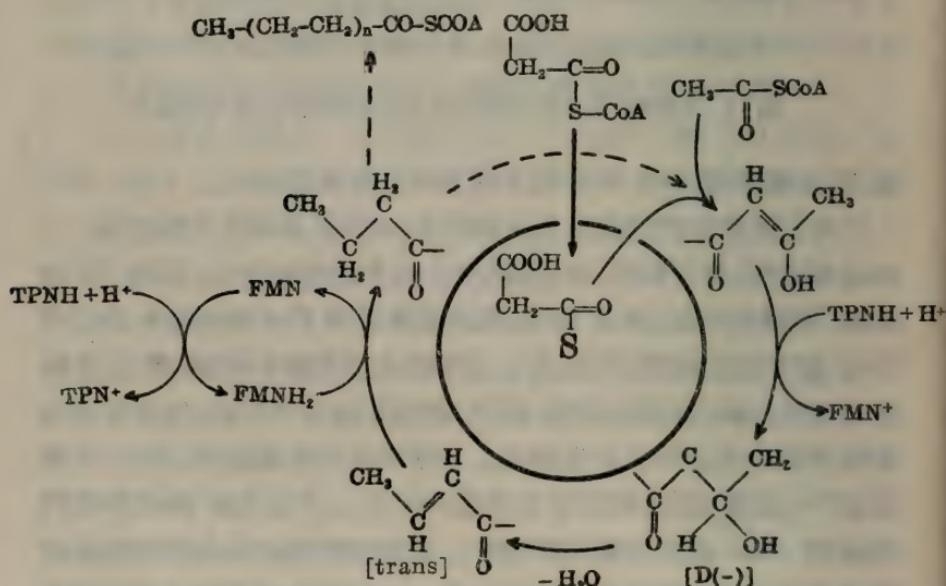


图 13 多酶复合体中脂肪酸合成反应图

从图 13 可以看出脂肪酸的合成与  $\beta$  氧化逆反应不同，虽然中间产物是一样的，但其性质截然不一样，它们在反应过程中一直是与酶结合在一起的。基本的区别在于缩合反应本身，在此系统中进入缩合反应的是丙二酰的硫酯化合物，而非乙酰的化合物，推动反应的动力来自  $\text{CO}_2$  的释放。此外在此系统中的辅酶为 FMN，而在  $\beta$  氧化逆反应为 FAD。这样使体内的合成与分解途径截然分开，此系统与 Wakil 所提出的机制不同之点，除了中间产物是与酶紧密结合之外，是在乙酰 CoA 与丙二酰 CoA 缩合的同时即脱羧释放出  $\text{CO}_2$ ，而 Wakil 的假说是最后才脱羧。

(3) Wakil 等最近的假说 为了进一步探讨乙酰 CoA 与丙二酰 CoA 合成软脂酸的机制，将  $R_{2gc}$  酶进一步提纯，其活性为原来的 3000 倍，称为  $R_{2a}$ ，又用  $\text{CT}_3\text{COSCoA}$  及  $\text{HOOCC}_2\text{COSCoA}$  进行实验。发现以  $\text{CT}_3\text{COSCoA}$  与非放射性的丙二酰辅酶 A 和  $R_{2a}$  一同保温，一克分子的  $\text{CT}_3\text{COSCoA}$  进入一克分子的软脂酰辅酶 A。说明乙酰 CoA 的甲基以整个分子并合入脂肪酸的合成。当用  $\text{HOOCC}_2\text{COSCoA}$  与非放射性的乙酰 CoA 保温时，亦得到含  $\text{H}^3$  的软脂酸，说明丙二酰 CoA 的氢亦并合到合成的脂肪酸。但根据 Wakil 等的假说，用  $\text{HOOCC}_2\text{COSCoA}$  进行实验时，最后获得的软脂酸不应获得放射性，因为经反应的第二步和第三步丙二酰 CoA 的第二碳上的氢都应丢失。因此他们修改了他们以前所提出的假说，认为缩合和脱羧可能是同时进行的。这一点与 Lynen 取得了一致的看法。此外由于他们不能由反应中分离出任何五碳或其他二羧酸的中间产物，也认为那些中间产物也可能是与酶结合的，此点与 Lynen 的看法相似，但不完全相同。因为他们认为关于  $\beta$ -酮化合物的性质尚须进一步研究。

1962 年 Bressler 和 Wakil 又进一步研究了乙酰 CoA 与丙二酰 CoA 缩合的最终产物， $R_{2a}$  酶中 SH 基的作用以及乙酰 CoA 对酶-SH 的保护作用。以层析方法鉴定反应最终产物为软脂酸而不是软脂酰 CoA。研究  $R_{2a}$  酶的性质时亦发现那些束缚 SH 基的化合物对脂肪酸的合成有抑制作用。以上结果与 Lynen 由酶

母中提出的“脂酸合成酶”相似。但預先使  $R_{2a}$  酶与乙酰 CoA, 丙酰 CoA 或丁酰 CoA 一同保温后, 再加入束缚 SH 基的化合物, 則后者对脂酰 CoA 与丙二酰 CoA 縮合脫羧反应无抑制作用。說明以上脂酰 CoA 对  $R_{2a}$  酶的 SH 基都有保护作用, 其效果以乙酰 CoA 为最好, 丙酰 CoA 次之, 丁酰 CoA 最差。但发现丙二酰 CoA 对  $R_{2a}$  酶几乎没有保护作用。Wakil 等认为乙酰 CoA 对酶的 SH 有很好的保护作用, 而丙二酰 CoA 无保护作用的现象說明最初与酶結合为乙酰 CoA, 而不是丙二酰 CoA。此点与 Lynen 的看法不同。进一步研究在无 TPNH 存在下乙酰 CoA 与丙二酰 CoA 在  $R_{2a}$  酶存在下縮合脫羧产物的性质, 发现其在  $275m\mu$  波长有一吸收高峰, 丙二酰 CoA 的脫羧反应是依賴于乙酰 CoA 或丙酰 CoA 的存在作为縮合的配偶, 而  $C_6$  和  $C_8$  的 CoA 都不能代替。 $275m\mu$  波长有吸收高峰的化合物在脂肪酸合成中的作用尚未闡明, Wakil 等推測为未經还原的中間产物。但由于該化合物不能并合入长鏈的脂肪酸, 即使是脂肪酸的中間产物, 可能由于在分离的过程中它遭遇了某些灭活的变化, 例如变成了去 CoA 的衍生物, 与酶的脱离, 或进行了环化和失掉輔因子等。Wakil 等认为以上實驗結果不能完全支持他們自己 1959 年的假說, 也不能支持 Lynen 所提出的假說, 最近他們提出一新的假說如下(图 14):

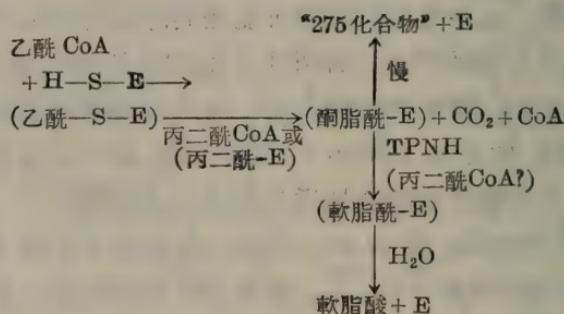


图 14 Wakil 等最近关于脂肪酸合成的机制的新假說

以上假說的特点是①乙酰 CoA 和丙二酰 CoA 都与酶結合在一起, 形成复合分子。②这些脂酰酶复合分子經縮合、脫羧反应,

可能立即还原、脫水、再还原而形成 C<sub>4</sub> 脂酰酶复合体。或者通过許多丙二酰基在乙酰酶复合体的表面反复地形成与酶結合的多酮化合物，該多酮化合物的羰基是再被 TPNH 还原、脫水、再还原为脂酰衍生物，后者再轉变为自由的脂肪酸。在 TPNH 不存在时該酮化合物即被脫酰而释放于介质中成为 275 化合物。后者的去酰过程比軟脂酸的形成为慢，在此假設中酮脂酰的性质尚未阐明，需进一步加以研究。

从上面的研究工作可以看出长鏈脂肪酸的生物合成主要是通过非綫粒体的酶系統，經丙二酰 CoA 的途径而形成軟脂酸。第一步由乙酰 CoA 在乙酰 CoA 羥化酶的作用下形成丙二酰 CoA 的反应机制比較肯定，不过异檸檬酸与檸檬酸对此反应的促进作用尚不十分清楚，此外丙二酰 CoA 的形成是否还有其他途径均需进一步加以研究。第二步乙酰 CoA 与丙二酰 CoA 在合成酶的作用下縮合而形成軟脂酸的机制尚不十分清楚，虽然有許多假說，目前尚很难加以肯定。但是縮合反应和脫羧是同时进行的，这一点已得到了一致的看法。縮合以后的步驟，目前尚存在着爭論，需有更多的事实方能肯定。关于“合成酶”的性质，Lynen 等研究的比較多，但他們用来研究該酶反应的基质都是合成的化合物，而不是自然存在的，而用的浓度頗大，因此所得結果能否直接应用于体内脂肪酸的合成是需要考虑的。此外丙二酰 CoA 作为供給二碳单位以聚合形成其他大分子的化合物是否具有普遍意义是更值得探討的問題。

#### 四、結 語

从上述脂質代謝研究的概况和脂肪酸生物合成的机制来看，脂質代謝的研究是生物化学中的一个新兴的領域，虽然目前对各种主要的脂質代謝的途径已基本上弄清，但还存在不少問題，需进一步解决，以后的研究可能将环繞下面的几个方向进行：

(一) 在代謝途径方面进一步搞清細节和填补空白，以及探討有无其他途径的存在。

(二) 在合成或分解代謝的機制方面，對某些脂質的某些環節更深入的研究，例如脂肪酸和膽固醇的合成機制方面的一些問題。

(三) 在代謝調節方面進一步研究某些脂質的合成或分解速度的控制環節，各種因素的影響以及影響的環節，反饋控制的機制，以及神經體液和激素對脂質代謝的影響和調節等。

(四) 各種脂質代謝的相互關係，以及與其他代謝的相互關係。

(五) 脂蛋白的結構與功能，脂蛋白的合成機制，血清脂蛋白的結構與脂質運轉的關係，細胞脂蛋白與細胞膜、線粒體、微粒體等的功能的關係。

(六) 脂質代謝與疾病關係：例如脂質代謝與動脈粥樣硬化、糖尿病、黃色瘤、腫瘤、甲狀腺功能不全或亢進等，在這些疾病中有哪些脂質代謝的紊亂及其紊亂的環節，最後達到預防和治療的目的。

# 抗体的性质及生成机制

刘思职

(北京医学院生物化学教研组)

如果有一种异种蛋白质，不經消化吸收途径而直接被注入动物体内，则此异种蛋白质可以影响体内的蛋白质生成机制，使其生成一种新的蛋白质。这个新的蛋白质若在体内或体外遇到上述异种蛋白质，则可特异地与之结合，并起沉淀或其他反应。这个新的蛋白质称为抗体；影响机体以生成抗体的异种蛋白质称为抗原。抗原与抗体的特异結合称为抗原抗体反应。抗体的生成是机体所具有的免疫反应性的一种表现。

## 一、关于抗体化学的三个重要問題

一般地說，只有完整的机体才能在抗原的影响下生成抗体。抗原如何影响整体以生成抗体？这是抗体化学的第一个重要問題。

抗原抗体反应具有严格的特异性。抗体如何在其生成过程中获得特异性？这是抗体化学的第二个重要問題。

在生理情况下，只有异种蛋白质才能影响机体以生成抗体。若以同种蛋白质注射动物，则多无抗体的生成。由此可见在抗体的生成上，机体对于抗原具有辨别“自己”与“非自己”的功能。机体如何辨别自己与非自己？这是抗体化学的第三个重要問題。

## 二、抗体蛋白的性质

为了解答上面提出的三个問題，近年生化学家及免疫学家对于抗体蛋白的性质及抗体的生成机制頗多研究，现擇其重要者闡述如下：

純化的兔抗体蛋白的分子量約为 160,000，与正常兔的 $\gamma$ 球

蛋白者极为相近。根据分析，不同抗体蛋白的氨基酸組成也与正常 $\gamma$ 球蛋白者几乎相同<sup>[1~8]</sup>。根据分子量推算，抗体蛋白分子約由1,500个氨基酸残基組成。目前的分析方法尙不能測定如此巨大分子中的氨基酸銜接次序。但根据 Porter<sup>[4,5]</sup> 及 McFadden 与 Smith<sup>[6]</sup>等人的研究，兔的几种不同抗体及正常 $\gamma$ 球蛋白具有一个共同的氨基末端，其所含氨基酸残基的銜接次序为……谷-天-纈-亮-丙。

抗体分子巨大，不易测定其所含氨基酸的銜接次序，已如上述；所以分裂抗体分子以求具有活性碎片的工作受到生化学家的重視。近年 Porter 等<sup>[5,7~9]</sup>用木瓜蛋白酶水解兔的抗鸡蛋清蛋白（以下簡写为抗 EA），获得 I、II 及 III 三部分，其分子量分別为 50,000、50,000 及 80,000。部分 I 及 II 的氨基酸組成及物理性质极为相近，而与部分 III 者不同。部分 I 及 III 含糖，部分 II 則不含糖。部分 III 很容易結晶，部分 I 及 II 則不能結晶。此三部分均不能与鸡蛋清蛋白（以下簡写为 EA）起可见的特异沉淀反应，但部分 I 及 II 可与 EA 特异結合而妨碍該 EA 再与完整抗 EA 相結合，并起沉淀反应。由此可见部分 I 及 II 具有与 EA 相結合的結合部位或活性中心，而部分 III 則不具有之。最近 Ovary、Karusht<sup>[10]</sup> 及 Stelos<sup>[11]</sup>証实上述 Porter 的研究結果。但 Grossberg 等认为部分 I 及 II 是不同抗体分子的水解产物<sup>[12]</sup>。在研究抗体蛋白的結構与功能的关系时，部分 I 及 II 的分子量尙嫌过大，但进一步水解則可使此二部分完全失去免疫活性<sup>[9]</sup>。

测定整个抗体蛋白分子或上述部分 I 及 II 的氨基酸銜接次序确有困难，但最近有人将此蛋白质分子或其碎片水解成为更小的肽，再用电泳及层析方法分离此水解液中的小肽，然后比較这些小肽在电泳层析图譜中的分布图案，并企图从此了解抗体分子結構与功能的关系。例如 Gitlin 等<sup>[13]</sup> 将抗不同型的肺炎球菌多糖的兔抗体用过甲酸氧化或加热使其变性，然后用酶将其水解，并在电泳及层析过程中分为 100~110 种小肽。据分析比較，用过甲酸氧化的不同抗体，其水解生成的小肽在分布图案上沒有显著差异；用

热变性者及未加任何处理者则有几个小肽的分布图案稍有不同。Gourvich 等<sup>[14]</sup>用酶水解兔抗马血清清蛋白的抗体及其正常  $\gamma$  球蛋白，再用同样方法分别自其水解液中分离出 40 种小肽，然后比较此 40 种小肽的分布图案。结果只有一种小肽的分布图案不同。在上述分布图案的比较研究中，水解生成的小肽似乎过多，水解裂断的肽键部位也未必相同，所以 Gitlin 及 Gourvich 等对于上述比较结果均不作肯定结论。

对于上述比较工作，另一因素需要考虑。Oudin<sup>[15]</sup>用抗原抗体在凝胶中扩散结合的方法，证明不同家兔的血清含有不同类型的  $\gamma$  球蛋白。所有家兔均含有一种具有共同抗原特异性的  $\gamma$  球蛋白；此外另有七种  $\gamma$  球蛋白，分别存在于不同家兔的体内。此七种称为别型的  $\gamma$  球蛋白(allotypes)。别型的兔  $\gamma$  球蛋白对于不含此别型的家兔可以作为抗原以引起抗体的生成。用同样方法，Oudin<sup>[16]</sup>也证明人血清球蛋白也含有多种不同的抗原成分。别型的  $\gamma$  球蛋白及不同的抗原成分可能在分子结构上稍有不同。结构的不同或可用以解释上述小肽分布图案的细微差异。

抗体蛋白及  $\gamma$  球蛋白均含有多糖。Rosevear 等<sup>[17,18]</sup>分析人、牛及兔  $\gamma$  球蛋白所含多糖的组成，证明其所含半乳糖、甘露糖、岩藻糖、氨基葡萄糖及唾液酸的比例为 3:5:2:8:1。氏等并证明此多糖系与肽链 C 末端的天门冬氨酸残基相联。抗体蛋白所含的多糖也可能同上述  $\gamma$  球蛋白者相同。

在弱碱性溶液中，抗体蛋白可被碘化。碘化时，抗体的活性随着碘化程度的增高而降低。当碘化程度达到每分子抗 EA 30 原子碘时，抗 EA 的活性完全消失<sup>[19]</sup>。可见被碘化的部位是抗体分子活性中心的酪氨酸残基。

兔的抗牛血清清蛋白的抗体(抗 BSA)可因其所含氨基的被乙酰化而失去与牛血清清蛋白( BSA)起特异沉淀的活性；但 96% 氨基被乙酰化的抗 BSA 仍可与 BSA 特异结合以生成可溶性的结合物，从而妨碍该 BSA 再与未乙酰化的抗 BSA 起免疫沉淀反应<sup>[20]</sup>。由此可见被乙酰化的氨基未必是抗体活性中心的主要组成

部分；但氨基的乙酰化可能在抗体分子之間造成自由羧基的静电排斥，从而阻碍免疫沉淀的形成。抗体分子中羧基若被酯化，则抗体与其特异碱性半抗原的亲和力减弱。但抗体与酸性半抗原的亲和力则不因其所含羧基的酯化而受到影响。可见静电吸引力在抗原抗体反应中起一定的作用<sup>[21]</sup>。

### 三、关于抗体生成的几个实验

**1. 抗体的生成部位** 应用萤光标志的抗原，可以证明抗体是在网状内皮系统，特别是脾脏及淋巴结的浆细胞及淋巴细胞中生成<sup>[22~25]</sup>。用同位素标志的抗原也可以同样证明抗体是在浆细胞中生成<sup>[26,27]</sup>。生成后，抗体即可被释放进入血液，并随血液循环流至全身各部。

**2. 抗体的生成方式** 抗体蛋白与 $\gamma$ 球蛋白的理化性质极为相近；但抗体蛋白并非由血清中已有的 $\gamma$ 球蛋白改造生成。将C<sup>14</sup>标志的正常家兔 $\gamma$ 球蛋白注射进入受过肺炎球菌免疫的家兔体内，在一定的期限内，其所生成的抗体并不含有C<sup>14</sup>标志<sup>[28~30]</sup>。但若对产生抗体的动物注入标志的氨基酸，则其所生成的抗体含有标志的氨基酸<sup>[29~31]</sup>。这表示抗体蛋白是机体在抗原的影响下用氨基酸从头开始合成的一种新蛋白质。

**3. 抗体生成细胞的移植** 受过免疫注射的兔脾细胞及淋巴结细胞具有生成抗体的机能。若将此正在生成抗体的细胞移植于另一未经免疫注射，但经X光照射的兔体内，则此移植的细胞可以在后一兔的体内继续生成相应的抗体。后一兔未经免疫注射，其生成抗体的机能亦因X光照射而消失。所以后一兔所生成的抗体必是移植在其体内的前一兔的细胞的产物<sup>[32~34]</sup>。

**4. 抗体生成细胞在体外的活性** 若将经过免疫注射的兔脾脏切成薄片，并在适宜条件下与标志的氨基酸共同保温培养，则标志氨基酸可以参入此组织薄片所含的抗体及其他蛋白质分子中<sup>[35]</sup>。氨基酸的参入若可代表蛋白质的生成，则可见抗体生成细胞能在体外的适宜条件下生成抗体。

**5. 同时注射二种抗原对于抗体生成的影响** 若对同一动物同时注射二种抗原，A 及 B，则 A 及 B 各自引起特异抗体，即抗 A 及抗 B 的生成。血清中抗 A 及抗 B 的总量大于单独注射 A 时的抗 A 量，或单独注射 B 时的抗 B 量；但小于后二者的总和<sup>[36,37]</sup>。可见机体生成抗体的能力受到一定的限制。

**6. 免疫回忆反应** 以异种蛋白质 A 自静脉注射家兔，经 7~9 日，蛋白质 A 几乎完全自血中消失，抗 A 亦即开始出现。再经 3~4 日，血清中抗 A 的含量达最高峰，以后逐渐降低。经 3~4 周后，抗 A 几乎完全消失。此时若再注射蛋白质 A，则 A 的消失较第一次注射者快，抗 A 的生成亦较第一次者多。抗 A 的生成量达最高峰后，消失亦较第一次者缓慢。此即免疫“回忆反应”。若第二次注射者不是蛋白质 A，而是另一种与 A 有免疫关系的蛋白质 B，则 B 的注射也可以引起抗 A 的回忆生成；A 的预先注射也可以加强抗 B 的生成。若第二次注射的蛋白质与第一次注射者不同，并且没有免疫关系，则无此回忆反应<sup>[38,39]</sup>。所谓“免疫关系”即蛋白质 A 与 B 可以在抗原抗体反应上起交叉反应，亦即抗 A 可分别与 A 及 B 起反应，抗 B 亦可分别与 B 及 A 起反应。例如牛的血清清蛋白与人的血清清蛋白有免疫关系；牛的  $\gamma$  球蛋白与鸡蛋的清蛋白则无此关系。产生免疫关系的一种可能原因是 A 与 B 的分子结构部分相同。

**7. 免疫耐受性** 以异种抗原注射成长的动物可以引起抗体的生成或其他免疫反应，已如上述。但若在胚胎期或初生期对动物注射某种异种抗原，则此异种抗原不会引起抗体的生成或其他免疫反应；而且此被注射的胚胎或初生动物成长后，对其再注射此异种抗原也不会引起抗体的生成或其他免疫反应。此即“免疫耐受性”<sup>[40,41]</sup>，亦即成长的动物能耐受曾在胚胎期或初生期注入体内的异种抗原，而不起免疫反应。

**8. 自家免疫** 只有异种蛋白质才可引起免疫反应或抗体的生成，已如上述。但在某些病理情况下，机体对于本身的某些组织蛋白质亦可产生抗体而破坏之。此种不正常现象称为“自家免疫”。

血小板缺乏病、慢性甲状腺炎、全身性紅斑狼疮、类风湿关节炎等即是比較常见的自家免疫病。产生自家免疫的原因<sup>[42~45]</sup>可能很多，下面还要詳細討論。

#### 四、关于抗体生成机制的几种假說

上述各項實驗事实引起生化学家及免疫学家的注意。被注意的原因不仅在于这些事实具有临床实用意义，而且在于这些事实可以在理論上闡明抗体的生成机制，亦即蛋白质的生物合成机制。关于抗体的生成机制，免疫学家及生化学家的意见分歧；他們曾各提出很多种假說。现将这些假說归纳为分子模板塑造假說及細胞品系选择假說分述如下：

**1. 分子模板塑造假說(簡称模板假說)** 此說最早由 Haurowitz 等提出<sup>[46~49]</sup>，后經 Pauling<sup>[50]</sup>、Karush<sup>[51]</sup>及其他生化学家补充。最近 Schweet 及 Owen<sup>[52]</sup>提出的假說也属于这一范畴。此說假定抗体蛋白的氨基酸組成及銜接次序与正常  $\gamma$  球蛋白者相同或近似，从而认为抗体蛋白的一級結構与正常  $\gamma$  球蛋白者相同，抗原的作用只是在抗体的生成过程中作为直接模板以影响一級結構(即肽鏈)的折迭，亦即作为立体結構的直接塑造模板。在此模板上塑造的抗体分子具有与抗原相适应的結合部位，故能与抗原特异結合。

根据上述，可见模板假說是以蛋白质的生物合成机制（见图1）为基础，从分子水平上解释抗原与抗体的特异性；与上节所述的各项實驗事实亦多能相容<sup>[53]</sup>。例如关于自家免疫，此說认为：(1) 体内組織蛋白质与外来物結合而成为一种异种蛋白质；此异种蛋白质可作为抗原模板以引起自家抗体的生成。(2) 在正常情况下，体内某些組織蛋白质与血液循环不大接触。病变时，此种蛋白质逸入血液而成为抗原模板，并引起自家免疫。(3) 正常組織退变时，其所含的蛋白质裂解而成为抗原模板。这些抗原模板的分子结构必与原組織蛋白质者部分相同。既然部分相同，则因其影响而生成的抗体必可作用于原組織蛋白质而破坏之。关于回忆反应，此

說认为第一次注射抗原后生成的抗体，可与第二次注射的抗原结合成为一种复合体。此复合体中的抗原对于机体中生成抗体細胞的刺激比單純抗原者深刻，故能加速并增多抗体的生成。

根据上述，可见模板假說有一定的理論根据，也有一定的實驗支持；但此說对于机体辨別自己与非自己的性能以及免疫耐受性的产生，则不能給以适当的解释。再者，根据此說，抗原模板必須存在，抗体才能生成。但根据免疫学經驗，抗体常可在体内无抗原可被检出的情况下繼續生成；某些传染病如天花，甚至可使患者終身免疫。既无模板，抗体怎能生成？这是模板假說所不能解釋的非难。

**2. 細胞品系選擇假說(簡称選擇假說)** 此說起源于Ehrlich氏的側鎖學說，經過 Jerne<sup>[54]</sup>修正，最后由 Burnet<sup>[55]</sup>提出。Boyden<sup>[56]</sup>最近提出的假說也属于这一范畴。此說以遗传学的知識为依据，假定机体生而含有各种各样的免疫活性細胞。此細胞是由遗传而来或由体細胞突变生成，并可决定免疫特异性。抗原的作用只是選擇刺激或選擇抑制某一种已經存在的免疫活性細胞。被抗原選擇刺激的免疫活性細胞可以繁殖分化；繁殖則可将其特异的免疫活性传給下一代，分化即变成可以生成抗体的細胞。但在胚胎期，体内不断生成的各种新异蛋白质(即各种新形成的器官蛋白质)則不是作为抗原以选择刺激，而是作为抗原以选择抑制与其相应的免疫活性細胞，并使其消失。

(1) 選擇假說对于机体辨別自己与非自己及免疫耐受性的解釋 胚胎在发育到各种器官完全形成之前，不斷生成新蛋白质抗原。根据上述選擇假說，此新的抗原可以选择抑制与其相应的免疫活性細胞，并使其消失。机体成长后，进入体内的异种抗原則可选择刺激与其相应的免疫活性細细胞，并使其生成抗体。这就是机体在免疫反应性上辨別自己与非自己的理論依据。同理，在胚胎期或初生期进入体内的异种抗原也可以选择抑制并消灭与其相应的免疫活性細胞；所以机体生长后，此异种抗原因无相应的免疫活性細胞可供刺激，故不能引起免疫反应。此即免疫耐受性的产生原因。

上述解释得到很多免疫学者的赞赏。但对同一机体，新异的抗原可以在胚胎期选择抑制相应的免疫活性细胞，并使其消失；而在机体成长后，新异的抗原则可选择刺激相应的免疫活性细胞，并使其生成抗体。这是一种比较难于体会的假定。我们若从生物的物质代谢方式在个体发育过程中不断改变的事实着想，则这种假定也不无一定的道理。

(2) 选择假说对于自家免疫的解释 此说认为，当机体的调节机制因受外来或内在因素的影响而发生紊乱失调时，某些免疫活性细胞可突变再生早被抑制消失的免疫活性细胞，例如再生与体内某种组织蛋白质相应的免疫活性细胞。此突变再生的细胞即可由于体内某种组织蛋白质的选择刺激而引起自家抗体的生成。

(3) 选择假说对于回忆反应的解释 此说认为，第一次注射进入体内的抗原选择刺激相应的免疫活性细胞，使其繁殖分化以生成抗体。第二次注射的抗原则可在第一次繁殖分化的基础上再刺激其繁殖分化，故能加速并增多抗体的生成。

(4) 对于选择假说的两种诘难 抗原蛋白约由 20 种氨基酸组成。假定抗原的分子量为 35,000，含有氨基酸残基约 300 个。按照不同的排列、组合及立体结构推算，此 20 种氨基酸可能组成的同分异构抗原约在  $10^{100}$  种以上。若机体对每一种同分异构抗原都生而含有一种相应的免疫活性细胞，则体内生而含有的免疫活性细胞种类势必接近天文数字。如此繁多的免疫活性细胞亦将无法在体内拥挤存在。这是对选择假说的一种诘难。再者，Landsteiner<sup>[57]</sup> 曾用化学方法，将不同的有机基团联接在各种蛋白质分子上，从而制成具有新的（即与原蛋白质不同的）抗原性的结合蛋白质。这些具有新抗原性的人工结合抗原是近代有机化学的产物，其种类也将随着有机化学的进展而增多。对于这些日新月异，不断增多的人工抗原，机体怎能生而含有相应的免疫活性细胞？这是对选择假说的又一诘难。但根据蛋白质的分子量及地球的体积推算，20 种氨基酸可能组成的蛋白质抗原不可能都在地球上存在。即使存在，也未必每种都有免疫特异性。人工合成的结合抗原种类

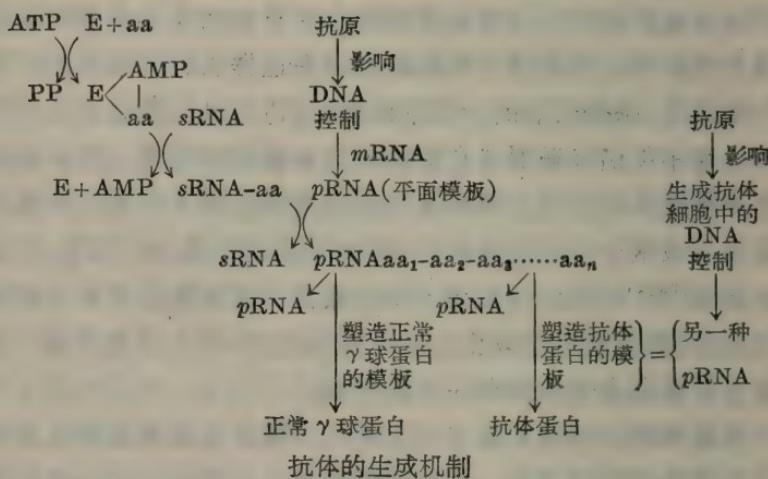
虽无限制，但其特异性可能相互类同，亦可能与天然抗原者类同。如此則环境中可以作为抗原的物质虽多如秋夜的繁星，体内的免疫活性細胞則可“分门別类”而与之相应。这样的答辯亦不无道理。

**3. 模板假說与選擇假說的融并** 根据上述，可见模板假說及選擇假說各有理論根据，各有一定的實驗支持。但因各有缺陷，所以两派尚在爭鳴。選擇假說的倡議者說<sup>[58]</sup>：“免疫活性及抗体的生成完全是在遗传水平上决定的。抗原的作用只是选择刺激可与其起反应的細胞，并使其增多。从体内細胞群的水平上看，这可以称为达尔文主义的观点，而与模板假說所具有的陆謨克气味不同。”他又說：“遗传单位所携带的信息究竟如何参入具有特异功能的蛋白质結構？对于这一問題細胞品系選擇假說并不关心。它所要主张的是，根据所有的生物学經驗，遗传信息只能在发生过程中发展，而不能借环境对染色体組的有意識影响获得。所以細胞品系選擇假說将抗体的生成以及抗感染力的获得看作体内間充质細胞群发生或漸生過程的結果。”模板假說的倡議者不同意这种看法。他說<sup>[58]</sup>：“作为一个生化学家，我們宁愿賦抗原分子以直接模板的功能，假定它在抗体生成期間持續存在，并且认为抗体的生成就是γ球蛋白在有抗原存在下的生成。”

根据我們的看法，此二說虽有分子模板塑造及細胞品系選擇之分，但仍有相同之处，可以相互融并。生物化学家已經初步證明，蛋白质的生物合成是通过 pRNA、mRNA 及 DNA 而受遗传的控制；抗体蛋白的塑造也不能例外。遗传学家近来也力求在 DNA 分子上体现染色体的遗传性能；抗体生成的細胞遗传方面也不能例外。如此則模板假說不应忽視抗体生成的細胞遗传方面；選擇假說也必須在 DNA 分子上关心遗传信息如何参入抗体蛋白分子結構的問題。換言之，通过 DNA 分子，模板假說与選擇假說可以彼此沟通而相互融并；但沟通此二說的 DNA 分子必須是一种可以由于环境对染色体組的有意識影响而发生改变的物质。

**4. 以 DNA 为枢紐的抗体生成机制** 抗体是一种蛋白质，其生成机制必与其他蛋白质者相似，但亦必有所不同。据近年的研

究，蛋白质的生物合成机制包括四个主要步骤(见下图)。第一步是氨基酸 aa 的活化。第二步是已活化的氨基酸被胞浆无结构部分中的可溶性核糖核酸 sRNA 所携带。第三步是携带氨基酸的核糖核酸，sRNA-aa 将其所携带的 aa 特异安置在核微粒的颗粒性核糖核酸 pRNA 模板上；此模板的结构则是通过信使核糖核酸 mRNA 而受胞核中脱氧核糖核酸 DNA 的控制，所以在其上联成的肽链具有一定的一级结构，即具有一定的氨基酸组成及衔接次序。第四步是肽链脱离模板，折叠成为具有一定立体结构的蛋白质分子。



ATP 三磷酸腺苷；AMP 一磷酸腺苷；PP 焦磷酸；E 酶；aa 氨基酸；  
sRNA 可溶性核糖核酸；mRNA 信使核糖核酸；pRNA 颗粒性核糖核酸；  
DNA 脱氧核糖核酸；aa<sub>1</sub>-aa<sub>2</sub>-aa<sub>3</sub>...-aa<sub>n</sub> 肽链

我們有理由假定，抗体蛋白与正常  $\gamma$  球蛋白的一級結構相同或极近似，亦即塑造此二种蛋白质所需的平面模板 pRNA 可能相同。但在抗原的影响下，具有一級結構的肽鏈可以叠成抗体蛋白。抗体蛋白与正常  $\gamma$  球蛋白具有不同的立体結構；此不同的立体結構即可賦抗体蛋白以免疫特异性。这是 Pauling 的假定<sup>[50]</sup>。我們若接受这些假定，我們就要問，肽鏈迭成抗体蛋白时是否需要另一模板？根据上面所述，抗原作为直接模板的可能性不大，因为目前还不能証明抗原在抗体生成过程中持续存在。我們可以假定

pRNA 既是复制平面肽鏈的模板，也是塑造立体結構的模板（如上图中間部分所示）。平面模板受 DNA 一級結構的控制；立体模板受 DNA 立体結構的控制。在有抗原存在时，DNA 的立体結構改变，从而接受抗原所携带的免疫信息。通过 mRNA，改变了的 DNA 又可将此信息赋予 pRNA。在此 pRNA 模板上塑造的蛋白质分子既具有一定的一級結構，也具有与抗原相适应的立体結構，亦即具有抗体的特异性。我們也可以假定肽鏈的折迭需要另一与平面模板不同的立体模板。此另一模板也是通过生成抗体細胞中 DNA 的控制而接受抗原所携带的免疫信息（如上图右侧所示）。

在上述的假定中，二个基本問題需要考虑。第一个問題是蛋白质的生物合成究竟需要一个模板或二个模板？第二个問題是抗原如何影响胞核中的 DNA？对于第一个問題，目前尚不能給以肯定的答复。体内若同时有一級結構的多肽鏈及立体結構的蛋白质存在，则二种模板的可能性較大；但目前还不能証明体内有較长的一級結構多肽鏈存在。关于第二个問題，首先必須証明 DNA 与抗体的生成有关。Dutton 及 Sterzl 等<sup>[59~61]</sup>証明，免疫的兎脾細胞在培养基中生成抗体的功能受到胸腺嘧啶（DNA 所含有）类似物，如[5]溴尿嘧啶脫氧核糖苷的抑制，但此細胞的其他代謝活性并不受其影响。最近 Strobel 等<sup>[61]</sup>用經過回忆刺激的兎脾細胞作培养实验，也証明[5]溴尿嘧啶脫氧核糖苷可以抑制抗体的生成。Berenbaum<sup>[62]</sup>报告，氮芥及 X 射線可以抑制小鼠对 TAB 疫苗的免疫反应。X 射線可以抑制 DNA 及胞核中 RNA 的合成，但对胞浆中 RNA 合成的影响則較弱。氮芥可以抑制 DNA 的合成，但对 RNA 合成的影响則較不明显。上述实验事实証明 DNA 与抗体的生成有密切关系。但 DNA 酶对抗体的生成似无影响<sup>[60]</sup>。这一事实似与上列的实验事实相矛盾。但 DNA 酶是一种蛋白质，它能否进入細胞核以破坏 DNA，或进入的量是否足以起破坏作用，都是值得考虑的問題。再者，“在細胞的生存期間，其所含的 DNA 若有分解，分解亦极緩慢，但 DNA 酶則可在各种动物組織中大量存在，这是出乎意料的<sup>[63]</sup>”，也可能是同 DNA 酶不影响抗

体生成有关的。

抗体的生成与 DNA 有关，已如上述。抗原究竟如何影响 DNA 以生成抗体？Schweet 及 Owen<sup>[52]</sup>认为抗原必须进入细胞核而与 DNA 结合。如此则抗原需要先穿过细胞膜及胞核膜，才能与 DNA 结合。分子巨大的抗原蛋白能否穿过这些膜尚待商榷；但若设想一种同吞噬或饮液作用相似的机制<sup>[56]</sup>，抗原先被此机制分解成为具有抗原性的碎片，再进入细胞核以影响 DNA 的立体结构（未必是同 DNA 结合），则可能比较合理。

以上所述可以看作抗原影响 DNA，DNA 控制模板的抗体生成机制，亦即以 DNA 为枢纽的抗体生成机制。此机制的主要内容可归纳如下：(1) 抗体的生成，与其他蛋白质的生成一样，需要 mRNA 为模板；此模板通过 DNA 而受遗传因素的控制。(2) 体现遗传性质的 DNA 分子可因抗原的影响而在其立体结构上发生特异的改变，抗原的信息亦即借此结构的改变而传给 mRNA 模板。换言之，抗原不是塑造抗体蛋白的直接模板。(3) 只要 DNA 分子保持因受抗原影响而发生的立体结构改变（即抗原的信息），抗体即可在体内继续生成；抗原存在与否并不重要。

DNA 分子能否长久保持抗原的信息？DNA 能否长久保持因受抗原影响而发生的立体结构改变？这是上述抗体生成机制的一个关键问题。在比较许多关于 DNA 代谢的研究结果之后，Davidson 认为<sup>[68]</sup>：“在代谢变化上，DNA 分子虽然不是完全不活泼，但比细胞所含的其他成分更为稳定。”所以携带抗原信息而发生立体结构改变的 DNA 分子也可以在体内比较长久存在，以发挥其对模板的控制作用。但必须指出，生物体内的一切物质都有新陈代谢，DNA 分子也不能例外。携带抗原信息的 DNA 分子虽可比较长久存在，但不能永存不变。所以机体受某种抗原的刺激而产生免疫反应后，免疫反应的持续也有一定的期限；期限的长短决定于抗原本身的性质，特别是抗原在体内被破坏的难易。破坏易者容易消失，对 DNA 分子的影响短暂而轻微；破坏难者则可对 DNA 分子发挥长久而又深刻的影响。这可能就是，不同抗原对于

同一种动物，或同一种抗原对于不同种动物的抗原性常常强弱不同的原因。

根据上述机制，若有二种或二种以上抗原同时进入体内，则这些抗原可以分别作用于不同细胞中的 DNA 分子，也可以分别作用于同一细胞中的不同 DNA 分子，各自产生特异的影响。二种抗原作用于同一 DNA 分子的可能性似乎不大，除非此二种抗原分子在结构上部分相同或相似。若因结构部分相同或相似而作用于同一 DNA 分子，则其刺激机体而生成的抗体应该可以在抗原抗体反应上起交叉反应。

动物经第一次免疫注射后，其体内的 DNA 分子发生一定的结构改变。隔几周后，若再注射同一抗原，则此第二次注射的抗原可以在前一次抗原对 DNA 影响的基础上，加强其对 DNA 的影响，从而加速已改变了的 DNA 分子的复制。已改变了的 DNA 分子增多，其所控制的 pRNA 模板亦必增多，抗体的生成亦即加速。若第二次注射者与第一次注射者在结构上毫无相似之处，则第二次注射者对受第一次抗原影响的 DNA 分子毫无作用；第一次注射者亦不能加强第二次注射的抗原对于 DNA 分子的影响。若第二次注射者与第一次注射者结构部分相同或相似，则第二次注射者可以加强第一次注射的抗原对于 DNA 的影响，同时第一次注射者亦可加强第二次注射者对 DNA 分子的影响。这就是上述机制对于免疫回忆反应的解释。

**5. 体内己化性与免疫反应性的相互拮抗** 以上所述只是抗原所携带的信息如何通过 DNA 以引起抗体生成的机制。至于机体如何在免疫反应上辨别自己与非自己以及机体如何产生免疫耐受性的問題，則須另行考慮。根据实验事实，我们可以設想，机体具有化异种蛋白质为己有的己化性，也具有对异种蛋白质起免疫反应的免疫反应性。这两种性能在体内相互拮抗。必須指出，己化与同化不同。同化作用是将异种蛋白质改造成为体内蛋白质；改造过程包括消化、吸收及吸收后的合成代谢。己化作用则是将新异的蛋白质直接化为己有，而不加以任何改造。在胚胎期，新异

的組織蛋白质不断生成，免疫机制尚未发展完善，所以己化性占优势。动物在初生期的情况也可能如此。所以在胚胎发育过程中出现的新异蛋白质，以及在新生期引进体内的异种蛋白质均可被己化，而不引起免疫反应或抗体的生成。反之，在胚胎发育的过程中，免疫反应机制逐渐完备，新异蛋白质的生成亦逐渐减少。至器官生成齐全后，新异的蛋白质几不再生。此时免疫反应性即占优势，进入体内的异种蛋白质即可引起免疫反应，而不被己化。这可能就是机体能在免疫反应上辨别自己与非自己的原因，也可能就是机体产生免疫耐受性的原因。

### 五、結 束 語

本文叙述了一些关于抗体蛋白的新近研究成果，列举了关于抗体生成的分子模板塑造假說及細胞品系選擇假說，并提出抗原影响 DNA 立体結構，DNA 控制模板以塑造抗体的机制。此以 DNA 为枢纽的塑造机制多属推測，實驗証据亦极不足。實驗証据不足的推測可能完全錯誤，但可作为进一步研究的参考。在进一步研究的考驗中，錯誤的观点必被淘汰，正确的观点才能建立。抛砖引玉，这是本文的目的所在。

### 參 考 文 獻

- [1] Smith, E. L. et al., *J. Biol. Chem.*, **214**, 197, 1955.
- [2] Fleischer, S. et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, **92**, 329, 1961.
- [3] Askonas, B. A., Farthing, C. P., & Humphrey, J. H., *Immunology*, **3**, 336, 1960.
- [4] Porter, R. R., *Biochem. J.*, **46**, 473, 1950.
- [5] Porter, R. R. & Press, E. M., *Ann. Rev. Biochem.*, **31**, 625, 1962.
- [6] McFadden, M. L. & Smith, E. L., *J. Biol. Chem.*, **214**, 185, 1955.
- [7] Porter, R. R., *Biochem. J.*, **73**, 119, 1955.
- [8] Porter, R. R., 1960,  $\gamma$ -Globulin and Antibodies, in "The Plasma Protein" p. 241 (Editor F. W. Putnam), Academic Press, Inc., New York.

- [9] Porter, R. R., 1960, in "Protein Structure and Function" p. 203, Biology Dept., Brookhaven National Lab., Upton, New York.
- [10] Ovary , Z. & Karush, F., *J. Immunol.*, **86**, 146, 1961.
- [11] Stelos, P., *Federation Proc.*, **21**, No. 2, 13, 1962.
- [12] Grossberg, A. L. & Roholt, O. A., *Federation Proc.*, **21**, No. 2, 28, 1962.
- [13] Gitlin, D. & Merler, E., *J. Exptl. Med.*, **114**, 217, 1961.
- [14] Gourvich, A. E., Guvernieva, L. M. & Miasoedova, K. N., *Bio-khimiya*, **26**, 468, 1961.
- [15] Oudin, J., *J. Exptl. Med.*, **112**, 107, 125, 1960.
- [16] Oudin, J., *J. Immunol.*, **84**, 143, 1960.
- [17] Rosevear , J. W. & Smith, E. L., *J. Biol. Chem.*, **236**, 425, 1961.
- [18] Nolan, C. & Smith, E. L., *J. Biol. Chem.*, **237**, 446, 453, 1962.
- [19] Johnson, A., Day, E. D. & Pressman, D., *J. Immunol.*, **84**, 213, 1960.
- [20] Pressman, D., Stelos, P. & Grossberg, A. L., *J. Immunol.*, **86**, 452, 489, 1961.
- [21] Grossberg, A. L. & Pressman, D., *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 5478, 1960.
- [22] Coons, A. H. & Kaplan, N. H., *J. Exptl. Med.*, **91**, 1, 15, 31, 1950.
- [23] Coons, A. H., Leduc, E. H., & Kaplan, N. H., *J. Exptl. Med.*, **93**, 173, 1951.
- [24] Coons, A. H., Leduc, E. H. & Connolly, J. M., *J. Exptl. Med.*, **102**, 49, 61, 1955.
- [25] Coons, A. H., *J. Cell. Comp. Physiol.*, **52**, Suppt. 1, 55, 1958.
- [26] Askonas, B. A. & White, R. G., *Brit. J. Exptl. Path.*, **37**, 61, 1956.
- [27] Berenbaum, M. C., *Immunology*, **2**, 71, 1959.
- [28] Gros, P., Coursaget, J. & Macheboeuf, M., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **34**, 1070, 1953.
- [29] Green, H. & Anker, H. S., *Biochim. et Biophys. Acta*, **13**, 365, 1954.
- [30] Askonas, B. A., Humphrey, J. H. & Porter, R. R., *Biochem. J.*, **63**, 412, 1956.
- [31] Taliaferro, W. H., *J. Cell. Comp. Physiol.*, **50**, Suppt. 1, 1, 1957.
- [32] Harris, T. N., Harris, S. & Farber, M. B., *J. Immunol.*, **75**, 112, 1955.
- [33] Harris, S. & Harris, T. N., *J. Immunol.*, **80**, 316, 1958.
- [34] Gengozian, N., Makinodan, T. & Shekarchi, I. C., *J. Immunol.*, **86**, 113, 1961.
- [35] Stainer, D. F. & Anker, H. S., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **42**, 580, 1956.
- [36] Liu, S. C. & Wu H., *Chinese J. Physiol.*, **14**, 81, 87, 1939.

- [37] Abramoff, P. & Wolfe, H. R., *J. Immunol.*, **77**, 94, 1956.
- [38] Dixon, F. J., Maurer, P. H. & Deichmiller, M. P., *J. Immunol.*, **72**, 179, 1954.
- [39] Weigle, W. O., in 1960, "Mechanism of Antibody Formation" (Editor M. Holub and L. Jaroskova), p. 283, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.
- [40] Billingham, R. E., Brent, L. and Medawar, P. B., *Nature*, **172**, 603, 1956.
- [41] Medawar, P. B., *Proc. Roy. Soc. (London)*, **146B**, 1, 1956.
- [42] Dameshek, W., Schwartz, R. & Oliner, H., *Blood*, **17**, 775.
- [43] Grabar, P., in "Recent Progress in Microbiology", p. 170, Almquist and Wiksell, Stockholm, Sweden., 1959.
- [44] Burnet, F. M., *Brit. Med. J.*, **2**, 645, 720, 1959.
- [45] Burnet, F. M., *New Eng. J. of Med.*, **264**, 24, 1961.
- [46] Breinl, F. & Haurowitz, F., *Z. Physiol. Chem.*, **192**, 45, 1930.
- [47] Alexander, J., *Protoplasma*, **14**, 296, 1921.
- [48] Mudd, S., *J. Immunol.*, **23**, 423, 1932.
- [49] Haurowitz, F., *Quart. Rev. Biol.* **24**, 95, 1949.
- [50] Pauling, L., *J. Am. Chem. Soc.*, **62**: 2643, 1940.
- [51] Karush, F., *Trans. N. Y. Acad. Sci., Series II*, **20**, 581, 1958.
- [52] Schweet, R. S. & Owen, R. S., 1957, *J. Cell. Comp. Physiol.*, **50**, Suppt. I, 199.
- [53] Haurowitz, F., *Ann. Rev. Biochem.*, **29**, 614, 1960.
- [54] Jerne, N. K., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **41**, 849, 1955.
- [55] Burnet, F. M., 1959, "The Clonal Selection Theory of Immunity", Cambridge Univ. Press, London, 1961, *New Eng. J. of Med.*, **264**, 24.
- [56] Boyden, S. V., *Nature*, **185**, 724, 1960.
- [57] Landsteiner, K., "The Specificity of Serological Reactions", Harvard Univ. Press, Cambridge., 1946.
- [58] Burnet, F. M., in "Mechanism of Antibody Formation" (Editor, M. Holub and L. Jaroskova), p. 15, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague., 1960.
- [59] Dutton, R. W. et al., *Biochem. J.* **75**, 230, 1960.
- [60] Dutton, R. W., *Immunology*, **5**, 414, 1962.
- [61] Strobel, P., Gross, H. & Chung, H. W., *Federation Proc.*, **21**, No. 2, 25, 1962.
- [62] Berenbaum, M. C., *Biochem. Pharmacology*, **11**, 29, 1962.
- [63] Davidson, J. N., "The Biochemistry of Nucleic Acids", 4th editor, p. 164, Methuen and Co. Ltd., London, 1960.

# 糖类皮质激素对糖、蛋白质及 脂肪代谢的影响

刘士豪

(中国医学科学院北京协和医院内分泌科)

一般來說，激素是通过对物质代謝的影响而发生作用的，虽然作用机制各有不同。垂体后叶抗利尿激素、醛固酮和甲状旁腺素主要调节无机物质代謝，而生长素、甲状腺素、胰島素、肾上腺素、皮质醇等激素则具有调节有机物质代謝的作用。皮质醇、皮质素等糖类皮质激素对糖、蛋白质和脂肪代謝的影响很早是从临床观察推論的。肾上腺皮质功能不全如阿狄森氏病表现有这些代謝异常：(1)在禁食或低碳水化合物进量下发生低血糖症，(2)口服或注射葡萄糖后发生反应性低血糖，(3)对外源性胰島素过敏，(4)禁食时呼吸商降低，(5)低血糖症状出现在较高血糖水平，(6)禁食时尿中氮排量較正常为低。这些现象均可用生理剂量的皮质素或皮质醇来纠正。肾上腺皮质增生或肿瘤引起柯兴氏綜合症时，患者显示血糖增高，体内蛋白质消耗和脂肪分布异常都提示皮质醇长期分泌过多所造成的有机物质代謝紊乱。近年来，动物实验和临床研究对糖类皮质激素的代謝性影响及其作用机制有所闡明。

## 一、对糖代謝的作用

糖类皮质类固醇对糖代謝的改变最为明显，且出现最早。Long 等<sup>[1]</sup>給切除肾上腺的、禁食 18~24 小时的大白鼠注射 10 毫克皮质醇后，动物体内持续而显著的存积碳水化合物，表现在(1)血液葡萄糖增加 40~50 毫克%，注射后 2 小时即已明显增加，并維持在这个水平 48 小时之久；(2)肝糖元增加，这种增加較血糖

增加稍晚，但在 24 小时可达 150~200 毫克/100 克体重，并维持在这个水平 24 小时；(3)肌糖元增加更为缓慢，注射后 8~12 小时才可查出；(4)总计全身碳水化合物含量增加了 1 倍，相当于正常动物喂食后的含量。在皮质醇的作用下，糖在动物体内增加的来源，首推葡萄糖利用降低，其次是葡萄糖生成过盛，最后是糖元生成加强。

**葡萄糖利用降低** 在皮质类固醇激素对糖代谢的影响中，血糖升高出现最早，意味着葡萄糖在利用上的阻碍。葡萄糖的氧化受皮质醇的抑制在人和动物实验中屡经证明。Henneman 及 Bunker<sup>[2]</sup> 报告在 16 例柯兴氏综合症和 11 例经皮质激素治疗的患者中，血糖升高和糖耐量降低的同时伴有血中乳酸和丙酮酸的堆积，血清无机磷浓度的降低，以及血中柠檬酸及  $\alpha$ -酮戊二酸浓度正常。这些改变在空腹、在给予葡萄糖后、在乙醚麻醉下，或注射乳酸以后均很明显，故作者认为皮质激素阻碍了丙酮酸氧化为  $\text{CO}_2$  及乙酰辅酶 A 的作用，对三羧酸循环并无影响。葡萄糖既然可以转变为丙酮酸，则皮质激素对葡萄糖在细胞膜的转运以及进入细胞后的磷酸化作用不会发生阻碍。Hennes 等<sup>[3]</sup> 给予正常人皮质激素后，空腹血糖和丙酮酸均升高，而  $\alpha$ -酮戊二酸正常；作葡萄糖耐量试验时，血糖和丙酮酸曲线升高，而  $\alpha$ -酮戊二酸曲线与未给予皮质激素以前，没有差别。正常人在应用去氢皮质素以前和在应用过程中静脉注射 10 克丙酮酸钠的实验进一步肯定皮质激素抑制丙酮酸氧化的作用<sup>[4]</sup>。在应用去氢皮质素以前，丙酮酸负荷使血液丙酮酸曲线的升高伴有血液柠檬酸的增加；但在应用去氢皮质素以后，空腹血糖及丙酮酸均较以前为高，而血柠檬酸较以前为低，且丙酮酸负荷不再使血柠檬酸升高，这说明皮质激素确有抑制丙酮酸氧化的作用，从而使血糖升高。

动物实验结果与上述临床观察一致，Glenn 等<sup>[5]</sup> 以皮质醇处理禁食的切除肾上腺的大白鼠后，观察到葡萄糖的输入使血糖升高，葡萄糖氧化率降低。这样处理的动物对输入的乳酸和丙酮酸均不能及时利用而在血中有堆积的现象，故作者们认为葡萄糖代

谢的阻碍在于丙酮酸氧化不全，且这种阻碍位于末梢组织。

关于类固醇激素抑制丙酮酸氧化的机制，Yielding 和 Tomkin<sup>[6]</sup>发现许多类固醇，包括皮质醇及皮质素均有抑制肌肉、肝脏、肾脏等组织中还原型二磷酸吡啶核苷(DPNH)氧化酶的作用。此反应被抑制后，DPNH 不易氧化为 DPN。DPN 是丙酮酸氧化脱羧为 CO<sub>2</sub> 及乙酰辅酶 A 所必需，它的缺乏势必引起丙酮酸氧化的阻抑。大鼠组织匀浆加入细胞色素 c 或肝微粒体后，可以促进 DPNH 的氧化，从而促进丙酮酸的氧化。维生素 E 有防止类固醇激素对 DPNH 氧化酶的抑制的作用，故能抵消激素对丙酮酸的抑制<sup>[7]</sup>。

**葡萄糖生成过盛** 在皮质醇的影响下，丙酮酸进一步氧化受阻，就有再合成葡萄糖的趋向。由丙酮酸经酵解逆行反应合成葡萄糖时需要与顺行酵解时不同的酶反应。首先，Krebs<sup>[8]</sup>指出，由于能量的需要，丙酮酸不能直接转回为烯醇式丙酮酸，而必需经过 CO<sub>2</sub> 的固定，即丙酮酸的羧化，形成苹果酸，经苹果酸脱氢酶的作用形成草酰乙酸，后者经脱羧作用产生烯醇式丙酮酸。有了烯醇式丙酮酸以后，酵解酶系的逆行反应可以进行至 1,6-二磷酸果糖阶段。Ashmore 等<sup>[9]</sup>利用 C<sup>14</sup> 标记的 CO<sub>2</sub> 及丙酮酸处理正常和经注射皮质醇 5 天的大白鼠，发现皮质醇确能增加血中葡萄糖及肝糖元的放射比活性，说明丙酮酸的羧化加强，形成较多的葡萄糖及肝糖元。

其次，1,6-二磷酸果糖转变为 6-磷酸果糖时，不能利用 6-磷酸果糖磷酸激酶的逆行催化，必须有果糖二磷酸酶的作用。此酶的活性在经过皮质素注射的家兔肝中显著加强<sup>[10]</sup>。这就便利了皮质激素促进丙酮酸形成葡萄糖的作用。

最后，6-磷酸葡萄糖形成以后，不能利用葡萄糖磷酸激酶，必须应用葡萄糖-6-磷酸酶的水解作用才能获得自由的葡萄糖。Weber 等<sup>[11]</sup>的研究说明大白鼠经皮质素处理后，肝匀浆、细胞核、线粒体及微粒体中的葡萄糖-6-磷酸酶活性大为增强。切除垂体后此酶的活力降低，不易因喂食而恢复<sup>[12]</sup>，也说明肾上腺功能与肝中

葡萄糖-6-磷酸酶活性的关系。此酶活力的增强也是皮质激素促进丙酮酸轉变为葡萄糖的一个因素。

以上三种酶系活力加强是皮质醇促进肝脏产生較多葡萄糖的依据，是血糖升高的又一个来源。但是这些酶活力加强是激素的直接作用，抑是間接地通过底物，例如丙酮酸的增加所引起，目前尙不能肯定，因为营养状态与皮质素同样对酶有誘导的作用。

**糖元生成作用加强** 切除腎上腺的大鼠在禁食的情况下不能形成肝糖元，在供給葡萄糖、果糖、甘油、乳酸或苹果酸后也很少形成糖元。Ashmore 等<sup>[18]</sup> 以 C<sup>14</sup> 标記的碳酸氢鈉給大鼠注射后，发现去腎上腺的动物血中葡萄糖的 C<sup>14</sup> 含量虽与正常动物相似，但肝糖元所含的標記远較正常动物为少。故腎上腺皮质功能不全引起糖元缺乏，不是由于底物不足或葡萄糖形成不够，而是因为从 6-磷酸葡萄糖形成糖元的过程发生障碍。

加用皮质醇可使去腎上腺的动物恢复肝糖元的存积和加强正常动物存积糖元的能力：Glenn 等<sup>[14]</sup> 的报告指出皮质醇注射給禁食的去腎上腺的大鼠后，头 2~4 小时不见肝糖元存积，此后存积出现，8~12 小时維持較高水平，24 小时內恢复原状。此种动物加进脂肪、蛋白质或氨基酸，均不增加肝脏对皮质醇的糖元生成反应，但葡萄糖或乳酸的注射显著加强皮质醇促进肝糖元生成的作用。因此，可以认为皮质醇主要影响葡萄糖或者它的直接产物(乳酸或丙酮酸)的去路；为了合成糖元，葡萄糖是主要的直接来源，而不是脂肪、蛋白质或氨基酸、葡萄糖的现有量(不是它的合成)决定肝脏对皮质醇在生成糖元上的反应量。葡萄糖与皮质醇同时給予时，不仅肝糖元而且肌糖元亦同时增加。皮质醇促进肌糖元的存积与上述未梢組織氧化丙酮酸的障碍是相关的。由于丙酮酸的氧化不足，葡萄糖的利用減少，而轉向糖元的形成。因此皮质醇促进糖元形成的原因至少部分地来自未梢在葡萄糖酵解最后阶段的障碍。当然在禁食情况下，或在皮质激素作用的晚期，蛋白质、氨基酸是糖元异生的重要来源。

## 二、对蛋白质代谢的作用

在大量糖类皮质类固醇的作用下，与动物体内碳水化合物增加的同时，尿素氮在尿中的排量于注射后 24 小时内增加一倍。如将尿素氮折合为分解的蛋白质，则知所释出的氨基酸的 60~70% 已转变为糖存留于肝、肌肉、血液，这就是葡萄糖异生作用，异生的葡萄糖转变为糖元即糖元异生作用。葡萄糖异生的直接来源是丙酮酸，而丙酮酸固然部分地来自分解不全的葡萄糖，但主要来自蛋白质的分解或蛋白质合成的抑制。

**皮质醇对蛋白质分解的作用** Kline<sup>[15]</sup> 利用大鼠膈肌及肝脏切片在体外保温，测定保温液中总氮量和氨基酸，以观察皮质激素对蛋白质代谢的影响。结果，动物切除肾上腺后，膈肌释出于保温液中的总氮量和产生的氨基氮较正常动物为少，而肝切片释出的总氮量和产生的氨基氮量与正常动物无异，说明肾上腺切除后，膈肌的蛋白质分解减慢，而肝脏蛋白质分解不受影响。切除肾上腺的动物以皮质浸出液处理后，可恢复其释出总氮量和产生氨基酸量的能力，也提示肾上腺皮质激素对膈肌蛋白质有促进分解的作用。

Bondy 等<sup>[16]</sup> 利用剔除内脏的大鼠来观察肾上腺皮质激素对血中氨基酸的影响。在剔除内脏的同时，保留或切除肾上腺的大鼠，皮质醇或皮质素的注射在最初 6 小时不发生变动，但在 24 小时内血中氨基酸较对照显著高涨，并持续至 48 小时。如切除肾上腺 24 小时后再剔除内脏，则皮质激素增加血中氨基酸含量更为明显。这些结果提示皮质激素促进末梢蛋白质分解的作用，而且这种作用与肝脏无关。

Engel<sup>[17]</sup> 以切除肾脏的大白鼠作为实验动物，以血中尿素氮含量作为肾上腺皮质浸出液的作用指标。肾上腺皮质浸出液或 ACTH 均可使去肾动物血中尿素氮含量增长的速度加快。注射氨基酸亦可加速尿素的形成，但皮质浸出液与氨基酸同时并用，则所形成的尿素只相当于其中之一的影响，说明氨基酸有抑制皮质

激素的作用，并且尿素增加不是因为氨基酸脱氨的作用加速，而是由于蛋白质分解增强。注射葡萄糖也有抑制皮质激素促进尿素形成的作用，这可能是因为高血糖引起胰岛素加强分泌所致。注射血浆白蛋白使皮质激素促进尿素形成的作用更为明显，也说明皮质激素的作用在于蛋白质的分解代谢。

以上三组实验都说明促进组织蛋白质分解是糖类皮质激素作用的一个重要环节，符合临床所见。阿狄森氏病患者尿中氮排量降低，而柯兴氏综合症病人有皮肤变薄、紫纹出现、肌肉消瘦、骨质疏松等蛋白质丢失的现象。

**皮质醇对氨基酸转运和分布的影响** 皮质醇促进蛋白质分解所释出的氨基酸，据 Christensen 等的研究<sup>[18]</sup> 其转运和分布也受皮质激素的影响。异丁氨酸 (amino-isobutyric acid, AIB) 是一种模型氨基酸，不被细胞利用或代谢，但在体内转运和分布与正常氨基酸一致，故能反映正常氨基酸的情况。大白鼠注射以  $^{14}\text{C}$  标记的 AIB 以后 1~2 天内，当 AIB 在体内的分布稳定时，再注射皮质醇或生理盐水作对照，发现在 2 小时内皮质醇使肝脏 AIB 含量较对照增加 70%。皮质素发生的改变较缓，在 4 小时内使肝内 AIB 显著增加。睾丸酮只增加肌肉的 AIB 含量，动情素二醇只使子宫的 AIB 含量明显增高。醛固酮及其他类固醇没有作用。

**糖类皮质激素对肝脏酶系的影响与葡萄糖异生作用** 在研究诱导酶的过程中，Knox<sup>[19]</sup> 发现除增加色氨酸的量外，许多其他物质，包括肾上腺素、组织胺等均可加强肝脏色氨酸过氧化物酶的活性。这个酶活性加强在切除肾上腺后即不再出现，可见这是通过肾上腺皮质的一种应激反应(stress)。以后，人称此酶为色氨酸吡咯环分解酶，是氧化色氨酸，使其吡咯环断裂而成甲酰犬尿酸原的酶。经 Feigelson 等<sup>[20]</sup> 的研究，此酶在肝中的含量经皮质素注射后大为增加。

大鼠肝脏谷氨酸丙酮酸转氨酶的活性，在持续给予皮质醇、皮质素或其他皮质激素 4 天以后增加 2~5 倍，而无生物活性的皮质

醇类似物则没有影响。同时皮质醇显著加强胸腺、胰腺、肾脏的转氨酶活力，轻度增加肌肉、脾、心肌、膈肌、肾上腺、睾丸、肺等组织的酶活力<sup>[21]</sup>。

从牛肝提取的谷氨酸脱氢酶是一种依赖 DPN 为辅酶以催化谷氨酸脱氨反应的酶。根据 Engel 和 Scott<sup>[22]</sup> 对此酶系的体外实验，加入生理浓度的皮质酮可加速 DPN 还原为 DPNH 的速度，从而加速谷氨酸脱氨的  $\alpha$ - 酮戊二酸的速度；较高浓度的皮质醇也有类似的作用。 $\alpha$ - 酮戊二酸的增加，通过三羧酸循环，最终导致葡萄糖及糖元形成，有利于糖异生作用。

以上有关三组酶的观察，虽属片断，都提示在糖类皮质激素作用下，某些使氨基酸分解或转氨的酶活力加强，为糖异生作用，使蛋白质转变为葡萄糖和糖元提供了底物<sup>[22]</sup>，为今后的研究找到了一些线索。

**皮质醇对蛋白质合成的影响** 上面引证的一些实验结果，虽然符合皮质醇有促进组织蛋白质分解作用的看法，但很难排除蛋白质合成受阻的影响。应用同位素实验技术可能帮助解决分解加强和合成减弱的问题。Clark<sup>[23]</sup> 以  $N^{15}$  甘氨酸饲大鼠，观察切除肾上腺和注射皮质素对蛋白质合成的影响。结果，去肾上腺动物尿中总氮及  $N^{15}$  排量较正常为少，体重丢失不多；注射皮质素的正常或去肾上腺的动物尿中总氮及  $N^{15}$  排量则比不注射的对照显著为高，体重丢失亦多。因此，在皮质素的作用下，动物利用膳食 N 以合成组织蛋白质较少，而用以转变为排出性含 N 废物较多。进一步实验发现用皮质素处理的动物躯体蛋白质的  $N^{15}$  含量较对照为少，非蛋白氮中的  $N^{15}$  含量亦较对照为少；肝脏的情况恰恰相反；经皮质素处理的动物肝重量增大，含蛋白质及非蛋白氮较多，其中  $N^{15}$  成分均增加。这个实验结果说明皮质素阻碍躯体利用膳食 N 合成蛋白质，而促进肝脏合成蛋白质。因肝脏只占体重的一部分，故总的平衡是蛋白质的丢失。这种丢失主要是由于蛋白质合成受阻，而不是由于蛋白质分解加强，因为参入的  $N^{15}$  被大量的正常氮稀释，即令这样的蛋白质大量分解，所排出的  $N^{15}$  只

能占总排氮量的小部分，不应显著增加。

用  $C^{14}$  标记的氨基酸，观察其在体外实验参入大鼠膈肌蛋白质的情况，也支持皮质素具有抑制蛋白质合成的作用。而切除肾上腺后，苯丙氨酸  $-3-C^{14}$  参入合成蛋白质的量增加<sup>[24]</sup>。

**皮质醇促进肝脏蛋白质合成的机制** 将大鼠肝脏制成匀浆，15,000 g 离心以沉淀线粒体及细胞残渣。上清液含有微粒体及细胞浆，在更高速度下离心可以分开。细胞浆含有可溶性核糖核酸(sRNA)，能激活氨基酸为参入蛋白质的合成作了准备，微粒体含有脂蛋白内浆网膜结构(lipoprotein endoplasmic reticulum)和核糖体(ribosome)，后者具有组合肽链的模板。因此，微粒体或细胞浆单独应用不能合成蛋白质，但二者合并即成为促进氨基酸合成蛋白质的无细胞系统。Korner<sup>[25]</sup> 利用这个无细胞系统以探讨皮质醇促进大鼠肝细胞合成蛋白质的作用机制。经皮质醇处理的大鼠肝脏制成的无细胞系统具有加强缬氨酸  $1-C^{14}$  参入合成蛋白质的作用，且参入的量随着皮质醇注射剂量而增加，切除肾上腺几天以内的大鼠肝脏无细胞系也有同样加强标记缬氨酸参入蛋白质的作用。正常和去肾上腺大鼠肝细胞微粒体与细胞浆交叉合并组成无细胞系统，发现去肾上腺对细胞亚结构的改变在于微粒体，而在细胞浆。进一步研究说明切除肾上腺几天以内的大鼠肝细胞核糖体中大颗粒较正常大鼠为多。大颗粒的核糖体比含有同量 RNA 的小颗粒可能在更大程度上促进氨基酸的参入。另一说法是核糖体的 RNA 模板是不稳定的，但在氨基酸充裕和在蛋白质合成激素，即胰岛素存在的条件下，此模板变为稳定，合成蛋白质的能力增强。Clark、Munro 等<sup>[26,27]</sup> 也提出肝脏 RNA，尤其是微粒体的 RNA 的稳定性依靠组织中自由氨基酸的含量。糖类皮质激素影响蛋白质生物合成的机制可能是通过它对 RNA 模板周围的自由氨基酸浓度以及胰岛素含量的改变，按照这些物质稳定 RNA 模板的程度，糖类皮质激素可能相应地促进细胞合成蛋白质的速度。

**在蛋白质合成中皮质醇与其他激素的相互关系** 在上面已经

提到去肾上腺大鼠肝脏无细胞系统有促进蛋白质合成的作用，但这种现象出现在肾上腺切除的初期，即在一周之内，此后逐渐减弱，在两周以后开始较正常为弱<sup>[25]</sup>。去肾上腺使肝脏合成蛋白质先强后弱，这种现象的解释牵涉到胰岛素和生长激素作用的了解。胰岛素是促进蛋白质合成的主要激素，生长激素的促进作用是通过刺激胰岛素的分泌以及通过解除胰岛素与组织的结合，而变为活性胰岛素。但是注射生长激素在促进蛋白质合成较注射胰岛素为有效，因单用胰岛素会产生低血糖，低血糖引起氨基酸的脱氨作用，脱离合成蛋白质的道路，在正常情况下，糖类皮质激素在加速肝外蛋白质的分解和肝内葡萄糖异生作用的速度中可以防止胰岛素的降低血糖作用。同时，糖类皮质激素和生长激素在肌肉与胰岛素拮抗，使其对胰岛素促进葡萄糖摄取的作用不敏感。此外，生长激素和糖类皮质激素均有使肝糖元分解为葡萄糖的作用，因而葡萄糖由肝脏源源而入血液。有了这些控制低血糖的机构，胰岛素才能顺利地发挥蛋白质合成的作用。

大白鼠切除肾上腺较久以后失去了皮质激素，并减少了生长激素的分泌，因而对胰岛素的作用几乎没有拮抗的能力。对这样的动物，胰岛素成为更有效的导致低血糖的激素，低血糖反过来又抑制胰岛素的分泌。在胰岛素相对缺乏的情况下，去肾上腺动物合成蛋白质的速度必然较正常为慢。同时，切除肾上腺后，末梢蛋白质的分解速度减慢，输入肝脏的氨基酸减少，因而合成蛋白质的底物也少了。此外，肾上腺的切除使动物失去肾上腺素的主要来源，因此，糖元分解的速度降低，这也是去肾上腺动物容易发生低血糖的一个原因。

基于上述，去肾上腺的初期肝脏合成蛋白质较多的解释可能是这样的。切除肾上腺的最初的影响是减慢从氨基酸形成葡萄糖的速度，这就使肝内氨基酸浓度增高，为合成蛋白质准备了底物。同时糖类皮质激素的丧失加强了胰岛素合成蛋白质的作用，故此时蛋白质合成较正常为多。

### 三、对脂肪代谢的作用

脂肪组织是合成贮藏和放出脂肪的主要场所。在这个组织里脂肪代谢与葡萄糖代谢有密切关系，故调节糖代谢的激素均能影响脂肪的合成、贮藏和释放。例如胰岛素通过6-磷酸葡萄糖的形成和代谢的促进，对脂肪的合成和贮藏有利，因为6-磷酸葡萄糖可供给2C团以合成脂肪酸，增加还原型TPN和氢以助脂肪酸链的还原性合成，并且形成磷酸甘油以便酯化脂肪酸而形成中性脂肪。胰岛素缺乏将导致6-磷酸葡萄糖代谢不足，以致磷酸甘油不足而引起甘油酯分解而释出自由脂肪酸。可见胰岛素对脂肪代谢的作用主要是通过对6-磷酸葡萄糖代谢的控制而调节脂肪合成和自由脂肪酸释出。另一调节脂肪代谢的机制是直接促进脂肪水解成脂肪酸和甘油这一反应以促进自由脂肪酸的释放。肾上腺素和去甲基肾上腺素使血中自由脂肪酸浓度迅速升高的机制即在于促进脂肪的水解作用或分解作用(lipolysis)。垂体促肾上腺皮质激素、促甲状腺激素和生长激素均有提高血浆自由脂肪酸的作用，其机制可能也在于此。至于糖类皮质激素对脂肪代谢的影响似有抑制脂肪合成和动员脂肪的作用。

**糖类皮质激素抑制脂肪酸合成的作用** 猫切除胰腺以后，其肝切片在体外从乙酸合成脂肪酸的能力降低；如果再切除肾上腺或垂体，则肝切片合成脂肪酸的能力可以恢复。同样地，四氯嘧啶性糖尿病大鼠肝切片从丙酮酸- $2\text{-C}^{14}$ 合成脂肪的量减低，但切除肾上腺后可以增加，而注射皮质素后又受到抑制。用脂肪组织作为观察对象重复上述切除肾上腺的实验，不易证明肾上腺皮质激素抑制脂肪组织合成脂肪的作用。不过，禁食的、去肾上腺的大鼠在注射皮质素后，其副睾脂肪从丙酮酸- $2\text{-C}^{14}$ 参入脂肪酸的量远较未经皮质素处理的动物为少，说明糖类皮质激素确有阻碍脂肪酸合成的作用<sup>[28]</sup>。

**皮质醇动员脂肪的作用** 大鼠副睾脂肪垫在体外保温，加入皮质醇后增加保温液中的自由脂肪酸；并且所释出的自由脂肪酸

量随着加入的皮质醇量的增加而增加，说明皮质醇有分解脂肪的作用。不过，去氧皮质酮加入脂肪垫也有分解脂肪的作用，虽然作用强度要比皮质醇为小<sup>[28]</sup>。皮质醇动员脂肪的作用机制尚不肯定，但由于皮质醇对脂肪组织的葡萄糖代谢的影响甚不明显，故其动员脂肪可能不是通过对葡萄糖代谢的抑制，而是直接的分解脂肪作用。

皮质醇动员脂肪的作用可以解释柯兴氏综合症患者四肢皮下脂肪消失，而不能解释其面部、胸、腹、臀部的脂肪沉积，即所谓向心性肥胖。不过，这些部位的脂肪组织对皮质醇的反应或敏感性可能与四肢的有所不同，同时须要考虑其他激素的综合作用。

**皮质醇在脂肪代谢中与其他激素的关系** 在胰岛素的作用下，皮质醇动员脂肪作用较小，且不能产生酮症<sup>[29]</sup>。所以在临幊上类固醇性糖尿病特点之一是不易出现酮症。但大鼠切除胰腺发生糖尿病以后，此时注射皮质素或 ACTH 或经过应激即可以发生酮症，同时肝脏有大量脂肪沉积，说明皮质激素对糖尿病动物确能动员大量脂肪进入肝脏，并加强其形成酮体的速度<sup>[29]</sup>。皮质激素促进酮体形成的条件，除了胰岛素缺乏以外，可能需要垂体生长激素的参与，因为狒狒(baboon)切除胰腺及垂体后，单用皮质素虽能增加血中脂质(脂肪、胆固醇、磷脂)，但不能产生酮症，只有再注射垂体前叶制剂(含生长激素)才能产生酮症<sup>[30]</sup>。因此，糖尿病病人发生酮症不仅是胰岛素缺乏的问题，而且需要考虑肾上腺和垂体前叶的功能情况。

肾上腺素及去甲基肾上腺素在脂肪代谢中有动员脂肪，增加血中脂质及自由脂肪酸的作用，是神经系统影响脂肪代谢的经常运用的机制<sup>[31]</sup>。注射皮质素给正常狗明显加强其对肾上腺素的反应，使其血浆自由脂肪酸升高持续 24 小时；血浆胆固醇和磷脂的上升也较单独注射肾上腺为高。狗切除肾上腺或垂体以后，血浆自由脂肪酸、胆固醇及磷脂因肾上腺素注射而升高的反应完全消失或大为减弱。这样的动物应用皮质素后又可使其恢复对肾上腺素动员脂肪的反应。因此，自由脂肪酸和脂蛋白由肾上腺素的

动员依靠肾上腺皮质功能的完整性尤其是皮质醇的分泌量。人类因应激而产生的血中胆固醇过多症可能部分地是基于肾上腺髓质和皮质功能同时亢进，使较多的肾上腺素和糖类皮质激素同时进入体内所致。

#### 四、研究激素作用机制的意义

从上述简单的复习可见糖类皮质激素对代谢的作用及作用机制的研究，与其他激素在这方面的研究一样，近年来在国外甚为活跃，发展迅速，扩大了我们的知识领域，但也提出了一些问题，须待进一步研究。今后激素对物质代谢的作用和作用机制仍然是生物化学的研究方向和任务之一，也是内分泌学中的一个关键性问题。激素作用机制问题的阐明不仅丰富内分泌学的基础理论，而且解决临床实践以及生产问题。掌握国内外的研究情况，利用新尖技术，分子水平研究与整体研究结合，动物实验与临床研究结合将是解决问题的途径和方法。在党的领导下，通过生物化学工作者和其他科学工作者努力，对内分泌问题的研究将作出卓越的贡献。

#### 参考文献

- [1] Long, C. N. H., Smith, O. K. and Fry, E. G., in *Metabolic Effects of Adrenal Hormones*, Ciba Foundation Study Group No. 6, p. 4, 1960.
- [2] Henneman, D. H. and Bunker, J. P., *Am. J. Med.* **23**, 34, 1957.
- [3] Hennes, A. R., Wajchenberg, B. L., Fajan, S. S. and Conn, J. W., *Metabolism* **6**, 339, 1957.
- [4] Fajan, S. S., *Metabolism* **10**, 951, 1951.
- [5] Glenn, E. M., Bowman, B. J., Bayer, R. B. and Meyer, C. E., *Endocrinology* **68**, 386, 1961.
- [6] Yielding, K. L. and Tomkins, G. M., *Proc. Nat. Acad. Sc.* **45**, 1730, 1959.
- [7] Yielding, K. L., Tomkins, G. M. and Munday, J. S., *J. Clin. Invest.* **39**, 1041, 1960.
- [8] Krels, H. A., *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **95**, 19, 1954.
- [9] Ashmore, J., in *Metabolic Effects of Adrenal Hormones*, Ciba

- Foundation Study Group No. 5, p. 25, 1960.
- [10] Mokrasch, L. C., Davidson, W. D. and McGilvery, R. W., *J. Biol. Chem.* **222**, 179, 1956.
- [11] Weber, G., Allard, C., deLarmirande, G. and Cantero, A., *Endocrinology* **58**, 46, 1956.
- [12] Weber, G., Ashmore, J. and Banerjie, G., *Fed. Proc.* **19**, 50, 1960.
- [13] Ashmore, J., Stricker, F., Love, W. C. and Kilsheimer, G., *Endocrinology* **68**, 599, 1961.
- [14] Glenn, E. M., Bowman, B. J., Bayer, R. B. and Meyer, C. E., *Endocrinology* **68**, 386, 1961.
- [15] Kline, D. L., *Endocrinology* **45**, 596, 1949.
- [16] Bondy, P. K., Jngle, D. J. and Meeks, R. C., *Endocrinology* **55**, 354, 1954.
- [17] Engel, F. L., *Rec. Prog. Hormone Res.* **6**, 277, 1951.
- [18] Christensen, H. N. in Metabolic Effects of Adrenal Steroids, Ciba Foundation Study Group No. 6, p. 56, 1960.
- [19] Knox, W. E., *Brit. J. Exp. Path.* **32**, 462, 1951.
- [20] Feigelson, P., Feigelson, M. and Greengerd, O., *Rec. Prog. Hormone Res.* **18**, 491, 1962.
- [21] Rosen, F., Roberts, N. R., Budnick, L. E. and Nichol, C. A., *Endocrinology* **65**, 256, 1959.
- [22] Thorn, G. W., Renold, A. E. and Cahill, G. F., *Diabetes* **8**, 337, 1959.
- [23] Clark, J., *J. Biol. Chem.* **200**, 69, 1953.
- [24] Wool, E. G. and Weinshelbaum, E. I., *Am. J. Physiol.* **197**, 1089, 1959.
- [25] Korner, A. in Metabolic Effects of Adrenal Steroids, Ciba Foundation Study Group No. 6, p. 38, 1960.
- [26] Clark, C. M., Naismith, D. J. and Munro, H. N., *Biochim. Biophys. Acta*, **23**, 587, 1957.
- [27] Munro, H. N. and Clark, C. M., *Proc. Natr. Soc.* **19**, 55, 1960.
- [28] Renold, A. E., Cahill, G. F., Leboeuf, B. and Herrera, M. G. in Metabolic Effects of Adrenal Steroids, Ciba Foundation Study Group No. 6, p. 68, 1960.
- [29] Scow, R. O., Chernick, S. S. and Guareo, B. A., *Diabetes*, **8**, 182, 1959.
- [30] Gillman, J., Gilbert, C., Epstein, E. and Allan, J. C., *Brit. Med. J.*, **2**, 1960, 1958.
- [31] Bogdonaff, K. D., Weissler, A. M. and Merritt, F. L., *J. Clin. Invest.*, **39**, 959, 1960.
- [32] Shafrir, E. and Steinberg, D., *J. Clin. Invest.*, **39**, 310, 1960.

# 結締組織的生化、病變及慢性過敏反應

王世中

(中國醫科大學學生化教研組)

結締組織是一種布滿全身的連續性組織。一切器官及組織的实质細胞和毛細血管系統均溶浸在并生活在這種組織中。一方面，血液中的各種養料必須通過結締組織才能被各種实质細胞所攝取；另一方面，細胞中的代謝產物也必須通過結締組織才能進入血液從而排出體外。由此可見，結締組織是实质細胞與毛細血管系統間相互聯繫的媒介。它在維持細胞正常活動及代謝的相對穩定性上起着重大的作用。

結締組織在維持機體活動上的重要意義雖不難体会，但有關它的具體的生理生化機制了解的還極少。今日我們所掌握的有關結締組織的知識還不過是化學成份及某些代謝途徑的階段。

從形態學方面來看，結締組織都具有三種成分，即：(1)無定形的膠體(基質)，(2)纖維及(3)細胞。

關於結締組織的生物化學，筆者曾寫過兩篇綜述<sup>[1,2]</sup>。本文先簡單介紹結締組織的化學及代謝，然后再簡單談一談與結締組織有關的某些病變。

## 一、結締組織的化學

### (一) 基質的化學

基質是一種半流動狀態的膠體，除水分及無機鹽外，基質中的主要成分为：(1)非膠原蛋白，(2)酸性粘多糖(AMPS)及(3)中性多糖蛋白質(NPSP)。在基質中這三種成分結合一起，從而形成了融貫全身的超微網狀結構，這種結構具有多樣的結合力、交換力和水合力，從而保證了細胞的營養補給及廢物的排除。

**(1) 非胶原蛋白** 非胶原蛋白是基质中的主要成分，从氨基酸組成来看，它属于球蛋白。在結締組織中，它与酸性粘多糖結合一起，与胶原蛋白不同，这种蛋白含有較多含硫氨基酸（胱及甲硫）。从一些研究結果来看，这种蛋白质在結締組織的功能上还是很重要的。例如，当創傷愈合时，結締組織中-SH 基活性大增，并且，肉芽組織的发育也完全与胱氨酸的含量平行。用組織培养法也可看到，如不加入胱氨酸，则纤維母細胞不发育，加入胱氨酸后，则开始发育，若加入甲硫氨酸，则发育更好。

**(2) 酸性粘多糖** 酸性粘多糖为基质中之特有成分，它們都是高聚化合物，目前发现的已有 8 种之多。它們是透明质酸、軟骨素、硫酸軟骨素 A、B、C、硫酸角质素、肝素、硫酸类肝素，它們的基本結構单位的性质及构造大部分已經判明<sup>[2]</sup>。这些巨大的成就是与 Meyer 等的名字分不开的。

**(3) 中性多糖蛋白质复合体** 这是一类結合非常紧的糖蛋白复合体，其中之糖多为中性糖，由于居多不含醛酸及硫酸，故呈中性。它們的聚合程度远較酸性粘多糖为小。許多这种短的多糖鏈可能在很多地方与蛋白质多肽鏈相連。

中性多糖的聚合度虽然較小，但种类却較复杂，例如，皮肤的中性多糖蛋白质中含有葡萄糖、甘露糖、半乳糖、核糖、庚糖、氨基糖等。此外，在其它的糖蛋白中，还发现有海藻糖、神經胺酸、涎酸等<sup>[2]</sup>。

有人曾把基质中粘多糖的結構和性质和离子交換树脂的結構和性质相比，认为粘多糖在細胞及血液間的物质交換上起重要作用。

## (二) 纤維的化学

結締組織的纤维主要可分成三类。即：(1)胶原纤维，(2)网織纤维及(3)弹力纤维。关于它們的理化性质、化学組成及結構等均已在前一篇綜述<sup>[1]</sup> 叙及。

值得指出的是，在結締組織中，最近有一种意料不到的纤维登

場，這就是纖維素。Hall 等在提淨上述三種纖維的結締組織殘渣中，發現一種新型的、屈折率很強的纖維成分。化學分析、電子顯微鏡及 X 光衍射等的研究證明它是纖維素。它的含量隨年齡的增長而增加。

### (三) 細胞

結締組織的細胞有許多種，其中重要的為纖維母細胞、肥細胞、漿細胞、淋巴球、組織球等。遺憾的是關於它們的研究，特別是生化的研究還很少。

纖維母細胞為合成膠原纖維的分子（原膠原）的所在。酸性粘多糖、非膠原蛋白等也很可能是在纖維母細胞中合成的。肥細胞能分泌肝素、組胺、5-羥色胺等。這些物質在保持細胞代謝活動的相對穩定上有重大作用，它和過敏反應也有密切關係。因此，這種細胞已被認為是一種單細胞的內分泌器官。漿細胞的功用主要是合成抗體。

結締組織的代謝活動在很大程度上受各種激素的影響，現在一般認為，這種影響主要作用於纖維母細胞及肥細胞。

## 二、結締組織的代謝

### (一) 酸性粘多糖的生物合成

關於酸性粘多糖的合成代謝的研究，最近發展極速。這主要歸功於 Leloir 的有關尿嘧啶核苷二磷酸糖類（UDP-糖）的研究以及 Lipmann 發現的腺苷 3' 磷酸 5' 磷酸硫酸（APPS）。前者是糖基轉移的主要載體（可視為一種輔酶），後者（也稱“活性硫酸”）參與了硫酸化反應。

酸性粘多糖中之葡萄糖醛酸及艾杜糖醛酸均系來自葡萄糖。即葡萄糖先轉變為 UDP 葡萄糖及 UDP 艾杜糖，後二者再分別轉變為相應的糖醛酸，N-乙酰氨基葡萄糖也來自葡萄糖，即葡萄糖通過葡萄糖-6-P、果糖-6-P、氨基葡萄糖-6-P 等中間產物最後轉變為 UDP-N-乙酰氨基葡萄糖。N-乙酰氨基葡萄糖可與 N-乙

酰氨基半乳糖互變。酸性粘多糖中之  $\text{SO}_4^-$  系通過 APPS 轉移到氨基糖上。

粘多糖的生物合成的研究是現代生化研究中最活躍部門之一。最近還發現了粘多糖聚合酶體系需要一種輔酶，此即維生素A。Wolf 發現，當大鼠缺乏維生素A時，腸粘膜中結合型氨基己糖的含量大為降低。從豬腸粘膜中得到的 pH5 酶可以催化  $\text{C}^{14}$  葡萄糖及  $\text{SO}_4^-$  合成粘多糖，這種酶中含有維生素A。

## (二) 胶原的代謝

胶原蛋白的生物合成是蛋白质生物合成這一重大課題內容之一。它的合成機制雖然還有許多問題有待闡明。但基本上也不外是各種有關的氨基酸先進行活化，後者再通過 sRNA 帶到 mRNA 上而合成原胶原。

胶原的分子中特別富于羥脯氨酸，但研究結果指出，羥脯氨酸滲入胶原分子中之速度遠較脯氨酸為緩，這可能是由於前者較後者難於活化的緣故。

胶原系在纖維母細胞中合成的。電子顯微鏡的研究指出，在纖維母細胞機能亢進期，其中的粗面小胞體有明顯增大和增多，而在纖維母細胞機能低下期、粗面小胞體顯著減少。並且，在增大的粗面小胞體常表現了不定形的形狀，其中可以觀察到微細的絲狀結構，這種細絲很可能就是 Gross 的原胶原。

至于原胶原如何從纖維母細胞中逸出則還不清楚。Giesekung 認為增大的粗面小胞體可在纖維母細胞的胞壁上開口（通過 pinocytosis）而落入基質中。在基質中酸性粘多糖的參與下，胶原分子中逐漸聚合，交連結構增加，終於變成成熟的胶原纖維。

## 三、結締組織的病變

結締組織既然是一種分布於全身的連續性組織。它本身所處的地位及所特有的結構使它成為實質細胞及毛細血管系統的環境，一切營養的補給及廢物的排除均須通過它。因此，結締組織本

身代謝的正常與否會影響實質細胞，反過來，實質細胞代謝正常與否也必然影響結締組織。

談到結締組織的病變使我們首先想到“膠原病”，這一名稱是Klemperer首先提出的。它是一些慢性結締組織病的總稱。膠原病這一名稱當然不夠恰當。因為結締組織的病變絕非單純涉及到膠原。Klemperer的膠原病包括：風濕熱、風濕性關節炎、皮肌炎、全身性硬皮病、全身播散性紅斑狼瘡、結節性動脈周圍炎等。除了這些典型的疾病外，還有不少的疾病也涉及結締組織。例如，肝硬化、動脈硬化症、糖尿病、慢性腎炎纖維症、尘肺、肺纖維症、肿瘤、創傷愈合、某些眼科疾患等等。據估計，目前已知的膠原病至少有50余種之多。

患膠原病時，結締組織發生廣泛的病變，它的局部症狀常包括基質的腫脹、細胞浸潤、纖維母細胞增殖、血管變性、纖維蛋白樣變(fibrinoid)、纖維增生等；在血液化學方面，常表現為血沉加速、血漿蛋白異常(dysproteinemia)，C-反應性蛋白(C-reactive protein)陽性，血中氨基己糖、粘蛋白增加等等。

### (一) 膠原病與纖維蛋白樣變

Klemperer曾觀察到，在許多種全身性結締組織病患者的結締組織中均出現“纖維蛋白樣變”。Klemperer就是根據上述諸症的這一共同特徵提出“膠原病”這一名稱的。

目前知道“纖維蛋白樣變”不僅出現於Klemperer所提出的幾種膠原病，也常出現於其它類型的結締組織病。

纖維蛋白樣變這一名詞代表病理組織學上的一種表現，即在染色性上它與纖維蛋白相似。形態上，纖維蛋白樣變小的可為細絲狀，大的可為帶狀。

纖維蛋白樣變的本質及生成機制一向為許多研究者所注目，因為這一病變的闡明對於了解膠原病的發病機制有莫大幫助。化學分析結果指出纖維蛋白樣變中含有較多量的酪、色、半胱、胱氨酸，它和纖維蛋白相似而與膠原蛋白不同。纖維蛋白樣變不受胶

原酶及透明質酸酶的影响，但可被纖維蛋白酶及胰蛋白酶完全水解。因此不少学者推論，纖維蛋白样变并非来自病变的結締組織本身。而系来自滲出之血漿。应用螢光抗体法不少作者先后証明了纖維蛋白样变中总是含有纖維蛋白。

进一步的研究指出，胶原病的纖維蛋白样变中除了含纖維蛋白外，还含有 $\gamma$ -球蛋白，并且很可能是 $\gamma$ -球蛋白(抗体)及其相应的抗原形成的沉淀，这种沉淀构成了纖維蛋白样变的主要部分。

根据这些事实，不少作者推論，胶原病的发病机制与慢性过敏反应有关(詳見下文)。

## (二) 胶原病与慢性过敏反应

患胶原病时，結締組織中出现纖維蛋白样变，已如上述。但纖維蛋白样变也出现于慢性过敏疾患。Rassle 观察到慢性过敏症的典型特征就是在結締組織中出现纖維蛋白样变，临幊上常把它作为慢性过敏病的病理診断的重要依据。

另一方面，Ehrlich 发现，在胶原病时，出现异常球蛋白(特别是异常 $\gamma$ -球蛋白)血症。

胶原病患者，网內系及結締組織中浆細胞数目增多，而动物經注射抗原而引起过敏反应时，浆細胞也大为增殖。

根据上述事实，不少研究者都认为胶原病的病因是由于慢性过敏反应。

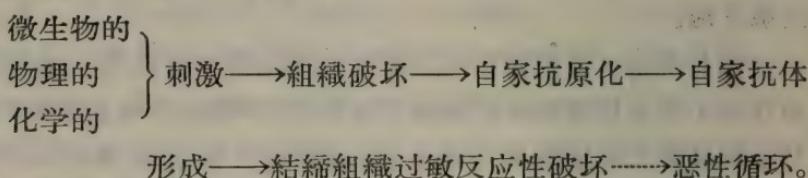
近几年来，有关胶原病的研究已經获得一些結果。这些結果虽还远不能系統地解答胶原病的发病机制問題，但可初步指出，它与过敏反应有密切关系。例如，紅斑狼疮所特有的所謂 L E 因子实系一种在泳动速度上与血清 $\gamma$ -球蛋白相等的蛋白质，它本身是一种抗核蛋白的自家抗体。在风湿热的发病机制方面，目前大都认为是由于 $\beta$ 溶血性鏈球菌的感染，这种細菌的抗原主要是鏈球菌素 O，在患者体内也发现了抗鏈球菌素 O 的抗体。在风湿性关节炎方面，Steffen 曾在本病患者血清中观察到抗滑膜提取物的不完全抗体。在結节性动脉周围炎方面，Rich 等发现这种病与

磺胺、青霉素、碘劑等引起的過敏反應所產生的病變甚為相似，許多種藥物或其它簡單化合物可以和體內蛋白質結合形成自家抗原，此在 Landsteiner 的經典工作中早已證明。在全身性硬皮病及皮肌炎患者的結締組織中，發現有一種“血清因子”，它與細胞核有親合力，它很可能是一種抗細胞核成分的自家抗體。

Germuth、Didon 等在研究實驗性過敏反應時，發現全身性過敏反應動物血液中含有抗原-抗體結合物，當抗原含量過剩時，此結合物為可溶的。此結合物具有致病力。當將此結合物給正常豚鼠注射後，可引起過敏性休克，注射動物皮內時可引起急症。Movat 的實驗指出，溶解狀態的抗原-抗體結合物可引起急症、暫時性炎症，而沉淀狀態的抗原-抗體結合物則可引起嚴重的組織病變，痊愈後形成硬結。

根據以上事實，一些作者推測，膠原病早期的急症為可溶性抗原-抗體結合物（抗原過剩期）所引起的，隨著抗體的逐漸增多，抗原抗體終於構成沉淀並沉積於前一階段被可溶性結合物所損害之組織上。炎變的組織，毛細血管滲透性增大，血漿蛋白質滲出，後者即與抗原抗體沉淀逐漸形成纖維蛋白樣變，並引起一系列病變，如纖維增生、硬節形成等等。

總之，根據現有資料，可以看出膠原病與慢性過敏反應有密切關係，其發病機制可假設如下：



#### 四、結語

總上所述，可知結締組織在維持機體的正常活動上是十分重要的。它既然是各種實質細胞和毛細血管系統相互聯繫的媒介，因而它和許多種組織器官的正常活動及病變，都有著密切的聯繫。臨牀上有很多有關結締組織的實際問題有待從基本理論上加以闡

明，因此应用基础科学和基础医学的理論和技术来研究結繩組織是十分必要和迫切的。从生化方面进行結繩組織的研究虽已有十几年的历史，但进展較慢同时也是不够平衡的。胶原蛋白的研究虽然有着很多的成績，但主要是把它作为一种典型的纤维形蛋白质从结构方面加以研究的，它在机体生理活动上的重要性究竟如何，探討的还很少。近数年来，有关酸性粘多糖的研究成果頗为惊人，但也还限于化学结构和生物合成方面，至于它們的生理功能还很少触及。在国外，有关結繩組織的研究已有十几年的历史，但在我國，这方面的工作仍是极少，我們认为，今后我們应当組織一定的人力，开展这方面的研究。我們要繼續深入研究基質中各种成分的分离与提純，研究它們的結構和功能。研究各种纤维成分的生物合成和代謝，研究它們的結構及功能。研究結繩組織特有的細胞（纤维母細胞及肥細胞）中各种成分的代謝及功能。研究激素及維生素等对于这些細胞活動的影响。在病理生化方面，應該研究胶原病的发病机制、过敏反应与結繩組織病變的关系，纤维蛋白样变的本质及生成，胶原纤维异常增生等等。除此以外，由于結繩組織是一个很复杂的系統，許多成分都是以結合状态存在，由分子水平研究結繩組織所获得的結果不一定能反映完整結構和完整細胞的真实情况；因此，改良现有技术及創造新技术也是非常必要的。当我们創造出完全嶄新的技术从而使我們有可能在完整的結構和細胞上进行各种成分的代謝和功能的研究时，就意味着我們在結繩組織的研究中跨入了一个新紀元。

## 参考文献

- [1] 王世中：結繩組織的生物化学，《第一次全国生化学术會議汇刊》，pp. 123~138，1962c。
- [2] 王世中：結繩組織的生化及其有关的病變，《生理科学进展》，付印中。

# 肿瘤发病机制的一些生化研究

刘 培 楠

(中国医学科学院实验医学研究所生物化学系)

肿瘤是对人类健康和生命威胁最大而其防治又是最困难的疾病。多少年来生物科学家和临床学家不懈的努力都还没有解决这个问题。按照现在的观点，认为要根本解决这个疾病，首先要阐明其发病机制，才能找出有效的措施，这是一件非常艰巨的工作。七八十年来世界上的学者没有在这个问题的探讨上少花气力，可是还未见有重大的成就。然而按照最近生物科学发展的水平（特别是在生物化学和生物物理学方面）来看，肿瘤的发病机制的解决似乎已有些端倪，特别是从核酸和蛋白质合成关系的密码问题来估计，前途是可以乐观的。问题在于不但要大力地开展肿瘤生物化学、肿瘤的生物物理学及肿瘤的生物学等的基本理论研究，还应从分子水平、细胞水平和整体水平等方面的探讨互相结合，深入地研究肿瘤生长和发展过程中的一系列变化。

自从十九世纪末 Müller 和 Klempner 同时发表有关肿瘤患者的氮平衡研究以来，迄今已有七十多年的时间。在这时期中全世界有关肿瘤生化研究的论文数目颇为可观，而且逐年在增加之中。仅从《生物化学综述年刊》(Annual Review of Biochemistry) 最近十五年中所发表的 12 篇有关肿瘤生化的综述中就引用了三千多篇的原著论文。这许多研究所牵涉的范围很广，几乎在生物化学的各个领域内都有肿瘤的研究资料，因此肿瘤生化已成为生物化学的一个重要分支学科。

肿瘤生化发展的历史并不太短，文献如此之多，研究过的問題的面又如此之广，究竟解决了一些什么問題，提出了什么线索，今后的研究应依循什么途径，是当前从事于肿瘤生化研究工作者急

一切想知道的事，我們能在这次全国生化学术討論会上討論這個問題是一個很好的機會。

在這個報告中擬談下列幾個問題：一、肿瘤細胞和正常細胞間的生物化学差別；二、肿瘤生長中特異性核酸的作用；三、化學致癌作用的生化機制。

## 一、肿瘤細胞和正常細胞間的生物化学差別

由於肿瘤細胞具有一些不正常的生長現象和代謝性狀（例如生長快速、氧化代謝的缺陷、酵解的升高等），很自然地引導許多科學家從事於比較肿瘤組織和相對應的正常組織之間的生物化学差別的研究。從所有的研究資料看來，它們之間的差別主要有下列三方面：（1）組成，（2）酶活性，（3）代謝。但是無論是組成上的差別，或是酶活性的差別，都必然和肿瘤的特異代謝有聯繫（無論是性質上或是數量上）。因此，進行生化差別的研究，可以：（1）了解肿瘤細胞生長和發展的原因，以及發病的生化機制；（2）為尋找治療肿瘤藥物提出理論根據；（3）為肿瘤早期診斷或臨床診斷設計更為靈敏的方法。生化差別的研究工作過去很被重視，今後仍將是很重要的研究課題。目前見諸記載的文獻資料很多，所牽涉的範圍也很廣，本文僅擬介紹糖、核酸和蛋白質三方面的若干問題。

### （一）糖 代 謝

**1. 酵解和呼吸** 三十年前 Warburg 等就報導了肿瘤組織和葡萄糖一同保溫，有大量乳酸的產生，這種產生乳酸的能力在有氧時並不失去，在多種肿瘤組織中都可以觀察到這種高度的無氧酵解，而在多種正常組織中無氧酵解僅為肿瘤組織的 10~20%。在有氧的情況下肿瘤中酵解就要降低到無氧時的 50%，然而在正常組織中于有氧存在時酵解則被制止，這是肿瘤細胞和正常細胞在酵解與呼吸現象中的差別。Warburg 解釋這種現象時，認為這是由於肿瘤細胞的呼吸受到損壞。Weinhouse 等不同意這種看法，他曾提出下列幾點來反對 Warburg 的理論：（1）在肿瘤中的

酵解虽是很高，氧的消耗值不减低，而有些肿瘤吸收氧气之迅速并不次于相对应的正常组织；（2）虽然肿瘤能产生大量的乳酸，但许多正常组织亦有这种能力；（3）用同位素示踪法可以证明各种肿瘤将葡萄糖与脂肪酸转变为二氧化碳的速度和正常组织者相似；（4）在肿瘤细胞的线粒体中和正常细胞的线粒体中同样地都有氧化磷酸化作用在进行着。所以 Weinhause 认为肿瘤组织所表现呼吸上的现象是因其中无氧酵解过高，以致正常的呼吸作用和正常的 Pasteur 效应亦不能将之压下来。

在此以后，对于肿瘤酵解与呼吸的研究更为活跃，有人证明在肿瘤组织中细胞色素 c 和细胞色素氧化酶是相对地缺乏，二磷酸吡啶核苷酸 (DPN)-细胞色素 c 还原酶与正常组织中者比较，则显得很少。也有人研究标记葡萄糖在肿瘤组织中形成乳酸的途径，用葡萄糖-1-C<sup>14</sup> 和葡萄糖-6-C<sup>14</sup> 被利用的程度以辨别那一个反应占优势，如在葡萄糖第 1 位碳上的活性较在第 6 位碳上活性大，即表示氧化途径在起作用，如这两位置的活性相等则表示酵解的途径占优势，从不同肿瘤所得到此两位置上 C<sup>14</sup> 的放射活性的比较颇不接近（如小鼠肝癌为 0.7，乳腺癌为 0.47，肝癌为 0.35，卵巢癌为 0.69，肉瘤为 0.65），说明在不同肿瘤中氧化和酵解的程度并无一定的比例，这些差异当然和不同肿瘤的性质、代谢以及酶活性等情况的不同而有所区别。此外，白血病髓细胞和正常髓细胞都具有高度有氧酵解的特征，而淋巴白血病的白血球的有氧酵解的速率倒很低，慢性的髓性白血病或淋巴白血病的白血球都在有氧情况下比之在无氧下产生较少的乳酸，白血病的白血球比正常的白血球产生较少的乳酸，然而从氧化活性来看，正常淋巴组织和恶性的组织间很难有所区别。这些资料说明不同种类的白血病间酵解的速率不相同，乳酸的产生并不高，甚至肿瘤细胞还不及正常者之多。

从以上所列举的一些例子来看，肿瘤细胞的酵解和呼吸的研究还不够，也还没有将已有的研究结果联系起来。因为许多学者所采用的肿瘤材料互不相同，从动物到人类都有资料，有用腹水

型細胞，也有用实质型細胞，此外，还有方法上的差异，实验条件上的差异等等，要由此寻找关系和适当的結論的确是很困难的。但是可以肯定，肿瘤細胞具有高度的无氧与有氧酵解，酵解的途径是依循正常組織的 Embden-Meyerhof 路線，这种酵解的形式自然是和肿瘤細胞的发生及发展有关系。由于葡萄糖降解过程若干酶活性的改变和代謝中若干物质的改变已漸明确，如再提出所謂呼吸受損的學說來討論，就显得无甚意义了。

此外，若干影响酵解的因素应加以考虑，例如酶与輔酶間浓度比例，各种內分泌的作用，电子传递上的紊乱，細胞膜通透性的改变，葡萄糖代謝与脂肪代謝的关系，与氨基酸代謝的关系，与核酸代謝的联系，以及氧化磷酸化作用的变化等。这是从糖代謝的基本理論与肿瘤細胞发病机制相联系的一些問題。

**2. 几种肝癌中葡萄糖代謝与其酶活性的比較** 现在从另一角度來談肿瘤生化的比較研究。在許多肿瘤的研究中，不少是用肝癌来探討其糖代謝和其酶活性的生化差别的。近几年中不但某一种肝癌和正常肝被用来作为比較的材料，而且又采用不同类型的肝癌来互相比較，这种研究也有利于发现那些生化差別和肿瘤的发病关系更为密切。在許多类型的肝癌中，Novikoff 肝癌是一种生长迅速的移植性肝癌(移植一周后就形成)，Morris 肝癌(第 5123 号)是一种生长較慢的移植性肝癌(需 2~3 月)，还有一种称为 Dunning 肝癌則需一个月。根据现有的資料这几种肝癌的代謝确有差別。

(1) Novikoff 肝癌 在这种肝癌中糖元的量非常低，用它的組織切片在含高鉀离子的葡萄糖溶液中保温，亦不显示它有合成糖元的能力。

从研究此癌在葡萄糖-6-磷酸 (G-6-P) 代謝中的酶活性可以观察到磷酸葡萄糖变位酶的活性降低到正常值的 10%，使糖元儲存的机制退化，另外 G-6-P 的磷酸酶的活性亦大为降低，甚至丢失(或成不活泼的 b 型)，因而使葡萄糖释放到循环系統中的量大为减少。另一方面，使 G-6-P 酵解的磷酸己糖异构酶的活性和导

向核酸合成的 G-6-P 脱氢酶的活性均大为增加, 这种情况在再生肝、胚胎肝、新生大鼠肝和經饥饿的正常大鼠肝中都不出现。所以这些糖代谢的酶活性改变是肝癌细胞的特征, 另外还可以观察到果糖 1,6-二磷酸酶在此肝癌中亦表现丢失。葡萄糖-6-磷酸酶和果糖 1,6-二磷酸酶的丢失, 可以说明在此肝癌中糖元异生作用的退化, 不能从非糖物质的前身物来形成糖类, 在糖元异生作用退化的情况下, 加上糖元形成的减退和葡萄糖释放到血液中的量减少, 而使糖元酵解促进的磷酸己糖异构酶的活性反而大增, 于是就导致 G-6-P 主要地趋向于不可逆的酵解途径。在正常肝中由 G-6-P 形成戊糖的岔路本来占很少的分量, 而在此肝癌中这种直接氧化葡萄糖以形成磷酸戊糖的反应大为增进。因此, 此肿瘤细胞所吸入的葡萄糖几乎全用于能量的产生和核酸的生产。这些酶活性的改变与正常肝酶活性的比较, 可图示如下(图 1):

Novikoff 肝癌中乳酸脱氢酶的活性比正常肝中减低约 20%,

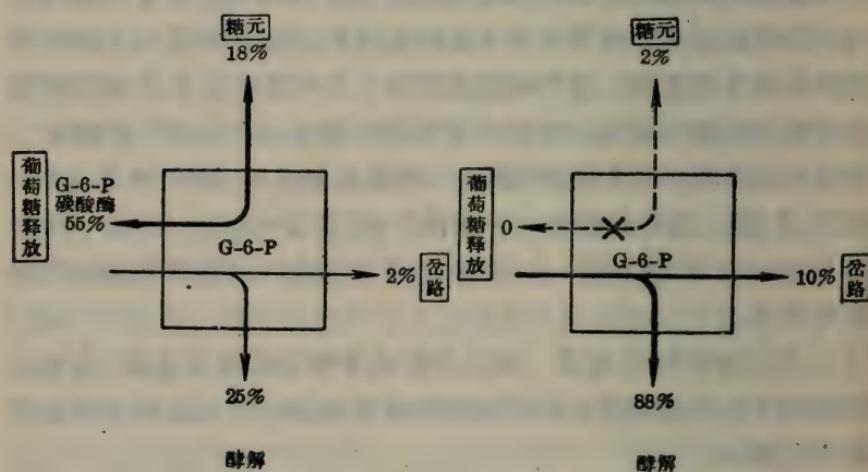


图 1 葡萄糖-6-磷酸代谢中的不平衡的生物意义  
(Weber, G., Adv. in Cancer Res., 6, 430, 1961)

图示 100 个葡萄糖-6-磷酸在正常肝与 Novikoff 肝癌中转变为糖元, 葡萄糖, 酵解及直接氧化的百分数。粗线表示显著的代谢途径, 虚线表示代谢途径很不明显, X 表示酶损伤的位置

$\alpha$ -甘油磷酸脫氫酶活性亦顯著地降低，在奶油黃(DAB)誘發的肝癌中亦是如此。此外，葡萄糖胺的合成在 Novikoff 肝癌中和在 3' 甲基奶油黃(3'MeDAB)誘發的肝癌中都較高。

(2) Morris 肝癌 (# 5123) 在 Morris 肝癌中糖元含量也很低，僅表現有極微弱的糖元合成。

磷酸葡萄糖變位酶的活性降低到正常值的 15%。在其 G-6-P 的代謝中，磷酸己糖異構酶、乳酸脫氫酶、6-磷酸葡萄糖酸脫氫酶的活性都降低，而 G-6-P 脫氫酶的活性則維持正常。磷酸葡萄糖變位酶和果糖-1,6-二磷酸酶亦都下降，G-6-P 酶的活性雖然減低，但仍較活潑，因此這種肝癌中葡萄糖釋放到血液中去的量並不很少。糖元異生作用則幾乎完全丟失。

圖 2 為比較正常肝、Morris 肝癌與 Novikoff 肝癌的糖代謝：

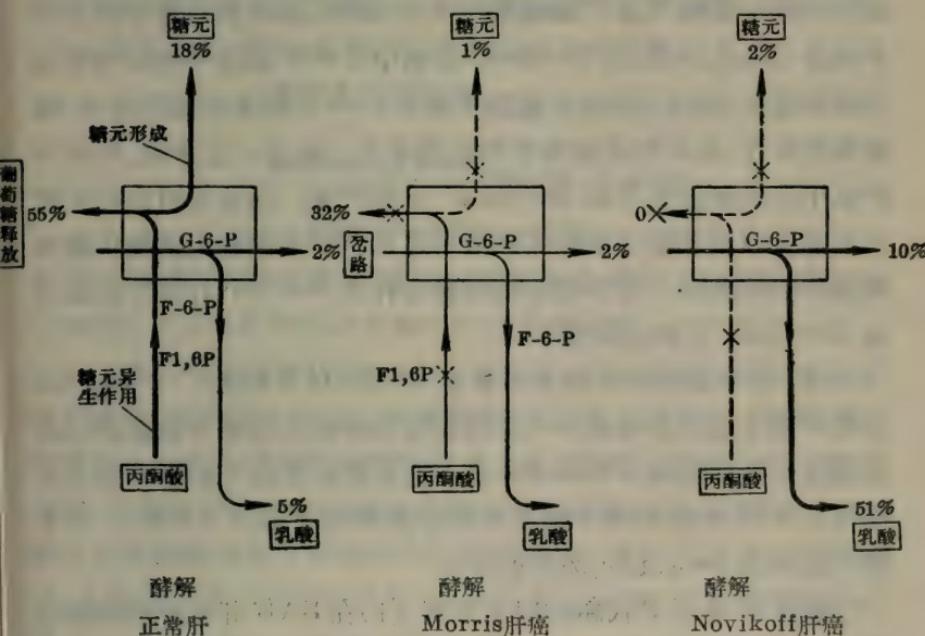


圖 2 正常肝與惡性增生肝中糖代謝途徑的比較

(Weber, G., Adv. in Cancer Res. 6, 444, 1961)

數字表示葡萄糖-6-磷酸代謝產物的微克分子數，圖中粗線表示顯著的代謝途徑，細線表示較弱的代謝途徑，X 表示代謝途徑中的酶部分地受到損傷，  
X 表示酶完全受損

比較 Novikoff 肝癌和 Morris 肝癌的糖代謝和酶活性的圖譜可以觀察到下列情況：

甲，兩種肝癌共有的缺陷：葡萄糖吸收的減少，糖元的形成下降，磷酸葡萄糖變位酶活性的降低，和從葡萄糖或丙酮酸形成脂肪酸的量極為微弱。

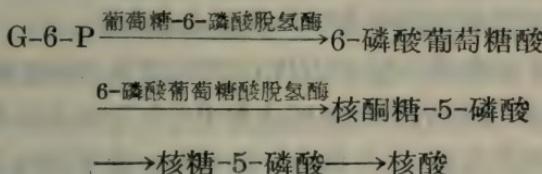
乙，在 Novikoff 肝癌中呈顯異常，而在 Morris 肝癌中呈顯正常的情況：G-6-P 脫氫酶在前者活性非常高，而在後者則接近正常；乳酸產量在前者很高，在後者接近正常。

丙，在 Novikoff 肝癌中是一完全的缺點，而在 Morris 肝癌中僅系部分的缺點：在前者糖元不能夠變為葡萄糖，亦不能從丙酮酸通過異生作用形成葡萄糖，這是由於葡萄糖-6-磷酸酶和果糖-1,6-二磷酸酶活性的丟失。但在後者葡萄糖-6-磷酸酶活性僅丟失 50%，果糖-1,6-二磷酸酶僅失去 30%，因此在後者中仍有較小的糖元異生作用。在 Novikoff 肝癌中 G-6-P 傾向於酵解與形成戊糖的途徑，而在 Morris 肝癌中部分 G-6-P 由於有葡萄糖-6-磷酸酶的存在，而將葡萄糖釋放到血液中去。從這一點來看，Morris 肝癌中的代謝損傷不如 Novikoff 肝癌嚴重，因此它可以產生較少的能量以供細胞分裂和其他活動之用。所以根據上述糖代謝和酶活性上的缺點，可以部分地解釋為什麼 Morris 肝癌生長速度比 Novikoff 肝癌為緩慢。

(3) 3'甲基奶油黃誘發的肝癌 (3'MeDAB 肝癌) 3'MeDAB 肝癌中糖元也很快地減少（在膽管增生時糖元的減少就能達到最高程度），而在喂飼 2 MeDAB 或 4 氨基偶氮苯的大鼠肝中則無此變化。DAB 大鼠肝癌中糖元含量亦非常低 (0.04~1.5%)，正常肝中則為 2.1~4.4%（按濕重計）。

按上述 G-6-P 代謝的四個方面，(1) 在 DAB 肝癌中磷酸葡萄糖變位酶的活性雖未見報導，但從 DAB 肝癌衍生而來的 Novikoff 肝癌的此酶活性大為降低，可以認為這個改變是肝癌的普遍性質，從糖元的含量減少到很大的程度來看，磷酸葡萄糖變位酶的活性顯然亦降低甚劇；(2) 在 DAB 肝癌中，葡萄糖-6-磷酸酶活性

逐渐下降，180天后此酶活性即难以察出。表示DAB的致癌作用能促使此酶的合成受到破坏，这种观点在下述結果得到証实：注射“考的松”到患有 $3'MeDAB$ 肝癌的大鼠体中，不能增进此癌組織中葡萄糖-6-磷酸酶的活性，如在正常肝中則可以观察到活性的增加，可见葡萄糖-6-磷酸酶的合成受到了損害；(3)在DAB肝癌中乳酸、腺嘌呤核苷一磷酸和三磷酸、葡萄糖-1-磷酸、果糖-1,6-二磷酸和葡萄糖-6-磷酸等都增加，而糖元几乎完全失去，腺嘌呤核苷二磷酸和磷酸甘油酸大大地減低，磷酸肌酸則完全消失。在此癌中磷酸己糖激酶活性增加到几乎为正常者的300%，因而大大促进了果糖-6-磷酸成为果糖-1,6-二磷酸的途径；另一方面由果糖-1,6-二磷酸水解为果糖-6-磷酸(需要有果糖-1,6-二磷酸酶的催化)的情况則不甚了解，所以此两个反应間的平衡在DAB肝癌中还不清楚，乳酸脫氢酶的活性与酵解速度的关系还不甚明确；(4)由葡萄糖-6-磷酸氧化为核糖須經過下列过程：



在Novikoff肝癌中葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的活性增加很多(300%)，在DAB肝癌中此酶的活性則近正常。

上述三种肝癌的代謝缺陷并不完全一致，因此利用这些材料进行比較，并与其生物学性质及特征相結合，是有可能了解它們之間代謝上的生化差别的生物学意义，从而寻找它們发病的来源与原因，但是仅仅研究糖代謝的生化差別是不够的，还必須与其他代謝上差別相結合来分析肿瘤的生长与发展。本文仅提到肝癌的例子，主要是因这方面的資料較多，結果較为具体，其他肿瘤的生化差别的研究显然也是很重要的。

## (二) 核 酸 代 謝

### 1. 核碱和核苷酸組成 肿瘤組織和正常組織間核酸組成的

区别，过去曾有不少报导，在 Chargaff 和 Davidson 所编的《核酸化学和生物学》专著中曾经总结了这些资料。看来在肿瘤组织和正常组织之间是存在着核酸浓度和核酸组成的差异，但是还难以提出在肿瘤组织中核酸组成有什么一定的图谱。Chargaff 和 Lipshitz 报导在正常人肝和肝癌间 DNA 的核碱组成几乎相同，在人卵巢上皮癌的 DNA 中腺嘌呤含量则较正常者为低。Woodhouse(1954)从若干自发性与诱发性的肿瘤中提出 DNA，测得其腺嘌呤与鸟便嘌呤之比、胸腺嘧啶与胞嘧啶之比都和其相对应的正常组织者之值相同，都是大于 1，而在小鼠肉瘤中则发现胸腺嘧啶的量很低。至 1956 年 Butler 等测定大鼠和小鼠的一些肿瘤中 DNA 的组成，亦未发现它们和正常者有很大的差别，可是鸟便嘌呤的含量有增高的倾向。Kleinschmidt(1959)报导鸡小肠、脾与鸡肉瘤、小鼠脾、肾与小鼠腹水癌细胞的 DNA 组成没有显著的区别。Kondo 和 Osawa(1959)，Kit(1960)报导了在同一种属动物的不同组织的肿瘤细胞中 DNA 的组成都相同。

至于 RNA 的组成，除了 Kit(1960)报导不同组织中 RNA 组成都相似以外，多数的工作者则认为 RNA 不如 DNA 的恒定。根据近几年的研究成就，认为细胞各部分存在着不同的 RNA，它们之间的组成差别很大，其所以得到 RNA 组成相似的结果，可能是由于所提取的 RNA 样品不纯，不是均一性的分子。在肿瘤组织中，RNA 的核碱组成和正常者比较有显著的差异。如最近 Dancheva (1961)报导用 3'MeDAB 诱发肝癌中细胞浆 RNA 的组成和正常者不同，最显著者为鸟便嘌呤核苷酸(GMP)，至于其他三种核苷酸的含量则区别不大，GMP 量的增加从诱发 90 天后即开始，不但癌本身即其周围组织中 RNA 的 GMP 也显著地增高。类似的报导还不少。GMP 量增高的意义现在还不十分明白，也许和蛋白质的生物合成的某些步骤有关系。相反的 Skipper 等试验了二十几种动物肿瘤和两种人的肿瘤，观察到在这些肿瘤中鸟便嘌呤并合到核酸中的程度不如到正常组织多。用鸟便嘌呤脱氨酶的抑制物(5-氨基-4-异吡唑甲酰胺)注射到小鼠体中后，此小

鼠所生的肉瘤 180 中核酸鸟便嘌呤的并含量便大为增加。所以 GMP 在肿瘤 RNA 中含量增高可能是由于其中鸟便嘌呤脱氨酶活性降低，可是在肉瘤 180 中此酶的活性又不是很低，因此，为什么 GMP 的含量在若干肿瘤中較高的原因还未能了解。除了上述的 4 种核苷酸外，近年来发现在不同的 RNA 中还含有少量特殊的核碱，在各个 RNA 所含的种类不一，数量上亦有差別，由于数量甚微，在一般分析中往往不易检查出来，它們的生理意义现在还不明白；在肿瘤 RNA 中这些稀有的核碱存在的情况还研究得不够，是否对 RNA 的性质具有重大的作用也还不知道。

**2. 酶活性** 在肝癌組織中几种核苷酸的 5'-核苷酸分解酶都显示活性降低，約為正常者的 25%（以湿重計）。核苷磷酸化酶的活性亦大为下降，約 50%（以湿重計）。腺嘌呤酶活性在肝癌中減低到 17%，鸟便嘌呤酶活性則減低到 40%，在 3'MeDAB 肝癌中黃嘌呤氧化酶和尿酸酶的活性都下降。这些与嘌呤分解代謝有关的酶活性的降低或丢失无疑是因为此代謝受到了損害。例如黃嘌呤氧化酶活性的丢失就促使嘌呤的分解代謝停留在黃嘌呤阶段。同时上述肝癌中嘌呤分解代謝上酶活性的降低，就可使核酸代謝中的平衡趋向于合成。

在 Novikoff 肝癌中，胞嘧啶脱氧核苷酸脱氨酶的活性很高，此为正常肝所无。但在 Morris 肝癌中亦无此酶。在 Morris 肝癌的胸腺嘧啶还原酶的活性与正常肝相近，而在其他肝癌中則无将胸腺嘧啶的碳 2 轉变为二氧化碳的能力。

在喂飼 3'MeDAB 的肝和 DAB 的肝癌中腺嘌呤核苷和腺嘌呤核苷酸脱氨酶的活性在癌前期时（喂染料三十日后）都表现增加，然而在肝的邻近組織中此酶的活性相同，认为在形成肿瘤后此酶活性不再有所改变。也有人报导偶氮染料誘发肝癌中腺嘌呤核苷脱氨酶的活性无变化，但其核苷磷酸化酶和黃嘌呤氧化酶活性則显著地降低。此外喂飼 DAB 和 2-AAF 的大鼠肝中接触酶和尿酸酶也都很低。在腹水性白血病淋巴球細胞中亦出现黃嘌呤氧化酶和尿酸酶的活性降低的情况。

在喂飼 2-氨基偶氮芴(2-AAF)24 周后大鼠肝腺粒体中碱性核糖核酸酶活性降低为对照的半数，而酸性核糖核酸酶的活性則不受此致癌物的影响。經 DAB 誘发的大鼠肝中这两种酶的活性，沒有明显的变化。

**3. 代謝** 在嘧啶的代謝方面，Lagerkvist 报导艾氏腹水癌細胞和肝都能以相同的速度将尿嘧啶-N<sup>15</sup> 和乳清酸-N<sup>15</sup> 并合到 RNA 中的嘧啶去，但是 Rutman 等和 Canterow 等則发现在大鼠肝和 2-AAF 誘发的肝癌中尿嘧啶的利用情况並不相同，前者不能利用外来的尿嘧啶，而肝癌則能利用。这反映了肝癌的生长很快可能与尿嘧啶被利用加强有关。Eidinoff 将嘧啶的前身物，氨基甲酰门冬氨酸-C<sup>14</sup> 注射到移植了肿瘤的大鼠体中，发现在肿瘤的胸腺嘧啶中比活性最高，其次为小肠、脾、肝等的胸腺嘧啶，而 DNA 中胞嘧啶的比活性和 DNA 中胸腺嘧啶的比活性則相等。

在嘌呤的代謝方面，甘氨酸-2-C<sup>14</sup> 較多地并合到 Flexner-Jobling 癌的酸溶性核苷酸和核酸中，而在正常大鼠肝中則較少。在此两种組織中，次黃嘌呤核苷酸(IMP)的活性較腺嘌呤核苷酸 AMP, ADP 或 ATP 为高，而 GMP, GDP 和 GTP 的活性則較相当的AMP, ADP和ATP为高。至于核碱并合到核酸中的情况則有些不同。腺嘌呤一般可以并合到小肠、肝或小鼠肉瘤180，而鸟便嘌呤能被并合到肿瘤中去的量很少，这是許多肿瘤所共有的特性。但是肿瘤組織能利用 2- 氨基嘌呤以形成其核酸中的鸟便嘌呤。

腺嘌呤核昔在肿瘤中的并合則很微弱。在 Flexner-Jobling 癌中 RNA 和 DNA 的核苷酸比活性都比正常肝中相当的核苷酸的比活性为高。在肝与肿瘤的細胞核 RNA 比細胞浆 RNA 具有較大的比活性，在肿瘤中核酸代謝較在肝中者为快。注射甲酰门冬氨酸-C<sup>14</sup> 后肿瘤中尿嘧啶单核苷酸的比活性較肝中者高 2 倍，这都表现在肿瘤中核苷酸的生物合成較为活跃。

### (三) 蛋白質代謝

肿瘤是一种异常增生的結果，一般都認為肿瘤中所含的蛋白

质和相对应的正常組織不相同，至少从免疫学的性质可以表现出来。Sauberlich 和 Baumann 进行了多种肿瘤蛋白质的氨基酸組成分析，还没有找到质与量上的特点。Sanger、Du Vigneaud 等进行正常和肿瘤組織的氨基酸末端和順序分析，则发现这两种組織間是存在着有意义的差別。以癌組織的蛋白质和胚胎組織蛋白相比，前者含賴氨酸、牛磺酸和酪氨酸，后者則无之。此外，在前者有較多的甘氨酸、絲氨酸、纈氨酸和丙氨酸；又在肿瘤組織抽提液中游离氨基的含量可占总氮量的 60%，而正常組織的抽提液中則仅占 20%。Kit 和 Awapara (1953) 观察到淋巴肉瘤較正常淋巴組織含較多的丙氨酸、甘氨酸和脯氨酸，但其门冬氨酸和谷氨酸則比后者为低；而 Smith 和 Rossi(1954) 則报导在淋巴肉瘤中丙氨酸和甘氨酸的含量較高，脯氨酸、门冬氨酸、絲氨酸和苏氨酸則較低。这些結果的不一致，可能和蛋白质的提純与分离有关；蛋白质提純的方法未解决，則肿瘤蛋白质的組成有何特点是难以发现的。

在蛋白质的代謝方面，血浆蛋白中的清蛋白和球蛋白都可为肿瘤蛋白质的前身物，已在 Walker 256 癌和肝癌中得到証实，它們进入肿瘤蛋白质的速度比进入对照組者要迅速 2 倍。在饥饿的动物中肿瘤的生长仍和喂飼动物中相同。在注射标记甘氨酸之后，饥饿动物正常組織中放射活性依时间之增长而减少，而在肿瘤反而增加，这說明肿瘤的蛋白质在饥饿的动物体中不能供其代謝上的需要之用，所以标记甘氨酸的活性并不随时间而消失。又肝癌能更有效地利用葡萄糖以为蛋白质合成之用，亦即肿瘤組織的合成活动倾向于蛋白质的合成与細胞的生长为多，而倾向于糖元的合成与其儲存为少。

从利用标记葡萄糖和乙酸的研究中，淋巴肉瘤的蛋白质中，80% 的放射活性为甘氨酸和絲氨酸所占，仅 10% 在谷氨酸与门冬氨酸中，这表示这种肿瘤合成分后 2 种氨基酸的能力很低。由于肿瘤生长很快，所以将游离氨基酸集中的能力亦較大，甘氨酸与蛋氨酸并入肿瘤蛋白质量比并入正常者高 3~4 倍，而其集中氨基酸的

能力亦高好几倍。此外，在氨基酸并合到肿瘤蛋白质的整体实验中，此种并合并不比正常者为快，在离体的肿瘤切片实验中，标记氨基酸并合到肿瘤蛋白质比到正常的约大 10 倍。有人认为这是因肿瘤细胞对蛋白质的生物合成能力甚强，但机体对肿瘤蛋白质的合成具有某种调节作用，所以不能显出其并合速度之迅速。

上述肿瘤细胞与正常细胞间的生化差别虽不全面，但已表现它们代谢上的显著差别；了解这些差别的机制对于解决肿瘤细胞生长与发展中的物质变化和形态变化的关系很有帮助。但是在这许多变化中有哪些步骤是肿瘤细胞发生的关键性问题，也很值得注意。近年来由于核酸和蛋白质的合成研究有很大的发展，对于肿瘤的发病机制也有很大的启发。

## 二、肿瘤生长中特异性核酸的作用

自从细胞的生长与 RNA 的含量的密切关系被发现之后，生物学界对于 RNA 的作用问题感到很大的兴趣。经过多种生物材料的试验，都得到一致的结论：凡是生长旺盛的组织（如动物的胰脏、肝脏、腺体、植物的根部）或细胞（细菌等），其 RNA 的含量都很多；反之，生长不旺盛的组织（如脑、肌骨）中的 RNA 就较少。不但从生化的分析，还可从组织化学的观察和用同位素方法的考查得到证实，生长旺盛就是蛋白质生物合成迅速的表现。肿瘤组织的生长是很快的，其中 RNA 的量也是很高，一般情况都是如此。但在个别肿瘤组织中情况并不一致，有的增加，有的减少，有的在细胞某一部分增加，而在其他部分减少，例如在不同致癌物所诱发的肝癌中，情况就不同（Reid, 1962, 见 145 页表）。

因此，如仅从核酸的增减是不可能探求肿瘤发病的机制的。必须进一步追寻在肿瘤组织中是否有特异的核酸存在，然后研究它的组成、结构与功能。由于植物病毒与动物病毒中感染性核酸引起疾病的能力已经得到证实，肿瘤中存在所谓“致癌性的核酸”应有可能。近几年来对于 RNA 在蛋白质生物合成中的地位与作用有了较深入地了解（见本书王德宝的专文和《科学通报》9, 27,

	細胞核 RNA	線粒体 RNA	微粒体 RNA	上清液 RNA
AAF	增加*	大減*	減少	增加
4'F-DAB	減少	減少	減少	无变化
3'MeDAB	大增	大減	減少*	增加*
DAB	減少*	減少	減少	減少
4'MeDAB	无变化	減少	減少*	減少
2-MeDAB	減少	減少	減少*	減少
2'MeDAB	无变化	減少	減少	減少
3-MeDAB	減少	減少	減少	減少

\* 也有报导无变化

1962),发现在細胞浆中有較小的 RNA 分子(称 sRNA)能将被活化的氨基酸轉运到核軸微粒的大分子 RNA 上,形成肽鏈。最近又发现細胞核中的所謂“信使” RNA 能将信息从核传递到細胞浆的蛋白质中去。詳細的机制现在还不知道,肿瘤中的蛋白质合成也可能經過类似的步骤。但一般都认为肿瘤組織中的蛋白质无疑和正常的不同,那末合成特异的蛋白质的信息,必然来自肿瘤細胞核的核酸。到目前为止应用肿瘤組織的抽提液进行引癌,大多数的实验获得成功,而应用肿瘤核酸(DNA 或 RNA)在动物身上誘发肿瘤而成功的例子則不多。最近 De Carvallo 以大鼠 Novikoff 肝癌的 RNA 提取液处理正常肝細胞后,再将此肝細胞注入正常大鼠腹腔,能使部分动物肝細胞形成癌样結节。反之,如将正常細胞的 RNA 提取液处理 Novikoff 肝癌細胞,再注入正常大鼠腹腔,則此处理后的癌細胞的成活率較对照者为低。牛滿江用小鼠艾氏腹水癌細胞与正常肝 RNA 作用,再注入小鼠体内,也观察到癌細胞的成活率降低,而同时此癌細胞出现清蛋白的合成功能增进,表现正常肝 RNA 的誘导分化效应并出现肝細胞特有的酶活性。这两个例子都証明了特异性 RNA 的存在,它是合成特异蛋白质的模板。

**病毒核酸的致癌作用** 目前病毒致癌問題已相当肯定;从形态学、遗传学、免疫学及生物化学上都可以观察到肿瘤病毒的反应。形态学上的观察不但在外表上、細胞学上而且在超微结构上

都能看到病毒感染引起肿瘤生长的证据。利用电子显微镜可以观察到所谓病毒小体，这种病毒小体进入动物体内可以重复地形成肿瘤，例如小鼠的乳腺癌组织的无细胞过滤液能使敏感的小鼠发生乳腺癌(Roscoe, 1933)，用超速离心机可将感染物质沉淀下来，在电子显微镜下观察有 $30\sim130m\mu$ 大小的颗粒。又多种白血病都经证明是由于病毒所引起，已知者有 Gross 病毒、Schwartz 病毒、Kaplan 病毒、Breyer-Moloney 病毒、Friend 病毒、Stansly 病毒和 Graffi 病毒。

应用肿瘤核酸引起肿瘤发生的例子并不很多，仅有下列几种较为肯定(Kaplan; Fed. Proc. Sym. No. 1, 1962)：

肿瘤病毒	宿主	发病部位	感染性核酸
Shope 乳头状瘤	兔	细胞核	DNA
多发瘤	小鼠、大鼠、田鼠	细胞核	DNA
Rous 肉瘤	小鸡	细胞浆	RNA
成髓细胞瘤	小鸡	细胞浆	RNA
淋巴腺瘤	AK 小鼠	细胞浆	?
乳腺癌	G <sub>3</sub> H 小鼠	细胞浆	?

这些核酸的抽提液还是比较粗的，如 1957 Bather 报导的 Rous 肉瘤中 RNA 的作用即是如此。进一步的核酸分离还未解决，所以应用纯净的核酸进行其结构与活性的研究还难以开展。

关于病毒核酸致癌的机制问题目前知道得还非常少。(1)在若干细胞核中繁殖的病毒的肿瘤例子中，可以和大肠杆菌被噬菌体感染而致病的情况相比，当外来的病毒 DNA 进入细胞之后，引起了细胞核中染色体的改变，立即影响了其中 RNA 的合成，形成所谓外来 DNA 型的 RNA，这种情况在酵母和细菌中都存在。在哺乳动物体亦有相同的情况，从而改变了宿主细胞的代谢型。例如在兔的乳头状瘤中与病毒有关的精氨酸酶的氨基酸组成和正常兔肝中精氨酸酶的氨基酸组成不相同，就是明证。(2)至于在细胞浆中繁殖的病毒的肿瘤例子中，可以认为病毒的 RNA 能够并合到宿主细胞内质网的核糖微粒上去，使核糖微粒上原来的 RNA

模板起了改变，或者病毒的 RNA（是一种新的 RNA）加到核肮微粒的 RNA 中去，以合成病毒蛋白质（这和目前一些学者认为信使核糖核酸与核肮微粒相接合而形成了特异的模板的观点相同），例如在成髓細胞瘤病毒中的 RNA，可在細胞浆中复制，并成为一种新的三磷酸腺苷酶合成的模板。这样自然就影响了宿主細胞的原来代謝性质。<sup>130-134</sup>

所以只要有病毒的存在，不論是在細胞核中或在細胞浆中，就有外来的模板来引导新的生物合成过程，这种过程是不能被宿主細胞中正常代謝調節机制所控制，这时細胞分裂就有形成肿瘤細胞的傾向，繼續分裂，成为肿瘤組織。

从这概念出发，設法分离具有活性的 RNA 就成为当前广泛被注意的問題。最近文献中报导細胞核中 RNA 的活性較其他部分的 RNA 活性为强，信使 RNA 的合成部位可能是在核中，这些都增加了活性 RNA 存在的信念和分离的可能性。

在外来病毒 RNA 的作用下，宿主細胞原有 RNA 合成是否能照常进行呢？有人认为既然 DNA 的核苷酸排列构成合成新 DNA 的密碼，同时亦为合成 RNA 的模板，此 RNA 又轉为合成蛋白质的模板，信息所以是从 DNA 經過 RNA 而传到蛋白质，只要 DNA 保持不变，任何 RNA 合成上的缺陷都能很快地恢复，如果 DNA 模板有了改变，一系列的 RNA 模板与蛋白质合成都要改变。最近 Astrachen 和 Volkin (1959) 及 Cohen 等 (1961) 都观察到噬菌体的信使 RNA 可以轉为合成噬菌体 DNA 的前身物，同时却抑制了宿主中核酸的合成。可能在肿瘤发生亦有类似的情况。另外在許多 RNA 的分子中，有的 RNA 合成的速度很快，有的 RNA 合成較慢，所以亦較为稳定。当有新的而且是活性較大 RNA（例如病毒的 RNA）进入細胞时，原来細胞中的 RNA 模板的作用因而減低，作为 DNA 发动者（Kornberg 首先发现）的作用亦因而減退。这样为了合成原来蛋白质所需的 RNA 模板就逐渐丢失，使原来細胞合成蛋白质的能力改变，这就是所謂 RNA 模板丢失造成細胞失常而引起肿瘤細胞生长的概念。

关于具有感染性 RNA 的致癌机制是一种推測，这个問題的解决也有待于蛋白质生物合成的机制的闡明。

至于在感染性核酸进入宿主細胞后所引起的一系列反应而形成肿瘤細胞的过程是很复杂的，尙待更多的探討。但是从大肠杆菌噬菌体与脑炎病毒的形成，使宿主細胞逐渐丧失其独立而完整的体系的途径去探索，亦不难找出这些病毒形成的特有的生化反应。所以研究病毒性的肿瘤的发病机制，按目前的基础水平看是具有較好的条件的，也有可能为其他病因的肿瘤研究創造有利的条件。

### 三、化学致癌作用的生化机制

化学致癌作用研究的历史最久，累积的資料也最多，从刷烟突工人所患阴囊皮肤癌，和喂飼奶油黃（顏料）引起肝癌的发现为开端，以致今日知道有多种有机化合物能够引起肿瘤的发生而成为肿瘤理論研究一个重要部分。从这些資料和經驗，科学家建立了各种肿瘤的动物模型，大大便利了进行肿瘤发病机制的研究。由此可以了解下列的几个問題：（1）什么物质可以引起肿瘤的发生；（2）从生物学的、形态学的、生物化学的和生理学的观点进行系統地与深入地分析致癌过程，有可能找到某些細胞中的损伤是恶性增生的主要关键；（3）化学致癌过程的研究可以区别什么是发病的主要因素、什么是次要的因素；（4）在了解致癌机制后，就可以設計有效的化学治疗药物。前面曾提到研究肿瘤細胞和正常細胞間的生化差別，能够了解个别代謝的一个小环节中的問題；而研究癌变过程，将有助于了解肿瘤发展全部过程的变化，而获得一个全面的癌变机制的概念。

寻找新的致癌物的实验是目前在許多实验室中仍在进行的工作。新致癌物的数目日在增加；虽然这些物质的致癌作用是人为的，不能代表自发性肿瘤的形成，但这种动物模型是有利于肿瘤发病机制的研究的；而且避免这类物质进入人体也有利于肿瘤的預防。

文献中报导較多的致癌物有奶油黃(DAB)、3' 甲基奶油黃、2-氨基偶氮芴等所引起大鼠肝癌的工作，根据 Miller 和 Miller (1947)的发现，DAB 在致癌过程中是和肝的蛋白质相結合，并且引起細胞核中 DNA 和蛋白质的量都升高，綫粒体与微粒体的 RNA 都降低，核黃素和蛋白质的量亦都下降，因此 DAB 的作用可使肝中与某些調节生长有关的蛋白质减少甚至丢失。若干酶活性的丢失，可能是由于此致癌物的直接作用所造成。在小鼠皮肤癌中已証明二苯蒽和 RNA 及 DNA 都能結合 (Heidelberger Davenport, 1960)，并且还比蛋白质的結合更是多些。这种和核酸結合的意义，自然要看被結合的核酸的功能是什么，估計到这种結合必然会影响到某些特异性蛋白质的生物合成。

最近 Reid 提出仅仅是蛋白质和核酸的变化不能是决定恶性增生的唯一关键。他认为应考慮到下列三方面具有关键性的变化来寻找肝癌的发病机制：(1)在正常肝代謝上有关速率限制的步驟发生变化；(2)在不同致癌物都能产生某些效应，而非致癌物則不产生这种效应；(3)凡在致癌作用的治疗中产生使癌变延緩的效应。

前节已提到的“丢失学說”是目下較为盛行的见解，在肝的致癌过程中生化的改变的确是在失去的方向发展。Potter 曾提出肿瘤中代謝异常是因其分解代謝受到压制，而合成代謝則加强，造成了代謝途径上不平衡所致。Potter 又认为肿瘤中的关键变化还在其造酶系統的受損，例如在某种移植性肝癌中在給以色氨酸后，色氨酸过氧化物酶(一种誘導酶)的活性并不增加，而在正常肝則有明显的增加。在原发性肝癌中亦不增加，这可能是由于致癌物干扰了合成某些酶的合成机制（这种机制对于維持正常肝細胞是很重要的）而引起了癌变。

上述的学說或见解可以作为工作假說，对于研究致癌作用是有帮助的。此外，有关肿瘤发病机制的学說还有很多，不能尽述，并且各有优缺点，还待更多的而且深入的研究工作加以証实。总之，肿瘤的发病机制是非常复杂的問題，也是很艰巨的工作，但在

今日生物科学发展的趋势看，这个問題的解决是很有希望的。我們希望生物化学家、生物物理学家、生物学家及医学家通力合作，在这次會議后有更多的科学家参加到这个研究中来。

### 参考文献

- [1] Griffin, A. C., in "Fundamental aspects of normal and malignant growth" (ed. Nowinski, W. W.), Chap. 12, 1960.
- [2] Skipper, H. E. & Bennett, jr., L. L., *Ann. Rev. Biochem.*, **27**, 137, 1958.
- [3] Weber, G., in "Adv. in Cancer Res.", **6**, 403, 1961.
- [4] Chargaff, E. & Davidson, J. N., "The Nucleic Acids", vols. 1 & 2.
- [5] Butler, J. A. V., Jones, E. W., Lucy, J. A., & Simson, P., *Brit. J. Cancer*, **10**, 202, 1956.
- [6] Kleinschmidt, W. J., *Cancer Res.*, **19**, 966, 1959.
- [7] Kondo, N. & Osawa, S., *Nature*, **183**, 1603, 1959.
- [8] Kit, S., *Arch. Biochem. Biophys.*, **87**, 330, 1960; **88**, 1, 1960.
- [9] Dancheva, K. I., *Abst. 5th Intern. Congr. Biochem. Sect.* **21**, 433, 1961.
- [10] Skipper, H. E., in "The Leukemias, etiology, pathophysiology and treatment" (ed. Rebuck), p. 541, 1957.
- [11] Campbell, P. N., *Adv. in Cancer Res.*, **5**, 98, 1958.
- [12] Reid, E., *Cancer Res.*, **22**, 398, 1962.
- [13] De Carvallo, S., & Rand, H. J., *Nature*, **189**, 815, 1961.
- [14] Niu, M. C., Cordova, C. C., & Niu, L. C., *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **47**, 1689, 1961; *ibid.* **48**, 11, 1962.
- [15] Kaplan, H. S., *Fed. Proc. Sym. No. 1*, 1962.
- [16] Astrachen, L. & Volkin, E., *Biochim. Biophys. Acta*, **32**, 449, 1959.
- [17] Cohen, S. S., Barner, H. D., & Lichtenstein, J. J. *J. Biol. Chem.*, **236**, 1448, 1961.

# 病毒生化研究的若干問題

柳 元 元

(中国医学科学院病毒系)

有关病毒生化的研究目前着重在下列几个主要的方面：一、了解病毒生物学活性的化学本质——包括病毒的感染性、抗原特异性、遗传性、变异等生物学活性的分子基础，其中又以了解病毒的遗传和变异的分子基础最为重要；二、了解病毒在宿主細胞內繁殖的过程中，病毒的核酸和蛋白质的生物合成过程及其相互間的关系，以及宿主細胞物质对病毒物质合成的作用；三、研究病毒的化学組成和分子結構及其物理化学性质等問題。在 1956~1960 年时期內，由于在實驗室內成功地分离到許多种有感染性的病毒核酸，因此，在这些方面的研究曾获得一些新的发展。但是近二、三年来，发展稍觉緩慢，所获得能够进一步闡明問題本质的實驗材料不多。

深入研究上述問題的主要目的在于寻找改造病毒的致病性和控制病毒的繁殖的方法，以便为最后达到預防和消灭病毒性疾病提供實驗的和理論的依据。

## 一、病毒感染性的分子基础

自从 1956 年以来，許多實驗室相继报告，从許多种类的植物病毒、动物病毒及若干种动物肿瘤病毒和噬菌体等分离到有感染性的核酸——RNA 或 DNA(Gierer 和 Sohramm, 1956a,b; Fraenkel-Conrat, 1956; Colter 等, 1957; Alexander 等, 1958; Hupper 和 Sanders, 1958; Wecker, 1959; Sokol 等, 1959; Liebenon 和 Schmidt, 1959; Brown 和 Stewart , 1959)。根据这材料以及目前生化實驗室在核酸和蛋白质生物合成的相互关系方面的研究結

果(其中又以 Ochoa 和 Speyer 等最近研究人工合成的多聚核苷酸对氨基酸渗入蛋白质的影响的實驗結果最具有兴趣),許多学者从而认为病毒感染性的分子基础即其核酸本身,而病毒的蛋白质部分仅代表病毒的抗原性和对其核酸起保护作用而已。

詳細分析已有的材料,发现存在着若干問題尙待解决:第一,所有被成功地分离到的病毒核酸的感染力絕大多数不超过原病毒的 1%,有的还不到万分之一。同时,所有的病毒核酸制品都仍然含有少量的蛋白质(或多肽)。有些学者认为,病毒 RNA 感染力比原来的病毒制剂較低的原因可能是由于宿主細胞外 RNA 酶的灭活作用。但是若干實驗証明,細胞外 RNA 酶的灭活作用不能被认为是使病毒 RNA 的感染力降低的唯一原因。另外一些實驗証明,当在 TMV-RNA 制剂中加入一定量的 TMV 蛋白质时,則可使其感染力提高数百倍(Fraenkel-Conrat, 1956; Lippincott, 1961),加入别的病毒蛋白质則无此作用。病毒蛋白质作为病毒感染力的重要构成部分也可以从 Takahashi 等(1958)的實驗中看出。这些作者将 TMV-RNA 用紙上連續电泳进行分离,发现大部分的感染力存在于含有少量蛋白质的部分中。

Cochran 等最近观察到,单独将 TMV 蛋白质接种于烟叶上时,与接种完整病毒一样能迅速地使烟叶的汁液改变其对紅外綫的吸收光譜,但是吸收曲綫两者不相同。而单独接种 TMV-RNA 时烟叶的液汁对紅外綫的吸收光譜的改变延緩到接种后 29 小时。該作者认为 TMV 的蛋白质具有酶的作用,为該病毒繁殖所必需。該作者同时认为,絕大多数的病毒 RNA 都需要和一定量的病毒結合在一起,始能表现出感染力而进行繁殖。

第二, Hershey 和 Chase 早于 1952 年观察到,噬菌体在向細菌注入其 DNA 的同时,还注入了 2~3% 的蛋白质。这些蛋白质中有一小部分可以传給下一代。Mayer 等 1961 年用酚从噬菌体提出 DNA,这种 DNA 虽能感染大肠杆菌的原浆胞培养,但是不能直接感染大肠杆菌。而且如果在原浆胞培养中加入 DNA 酶或胰蛋白酶均能破坏 DNA 的活性。可能这种 DNA 也需要和某种

蛋白质结合始能表现出感染性。

根据 Hoyle 和 Finter (1957) 的实验，利用同位素  $P^{32}$  和  $S^{35}$  分别标志流感病毒的 RNA 和蛋白质部分，然后用标志的病毒感染细胞培养，观察到在感染后虽然大部  $S^{35}$  留在细胞膜上，仍然有一部分进入细胞内。该作者研究结果认为进入细胞内的是病毒的核蛋白质——可能即为可溶性抗原与核酸结合的物质。与此同时， $P^{32}$  则几乎全部进入细胞内。由此看来，流感病毒的蛋白质中的某些成分可能是流感病毒核酸呈现感染性的必需的辅助物质。不少作者报告(Ada 和 Lind, 1959; Benedict 和 Lind, 1960)，未能从流感一类的病毒成功地提得感染性核酸，这一事实可能说明这一问题。关于这方面的研究，尚值得进一步探讨。

除流感等病毒以外，对大多数 DNA 病毒如痘类病毒和大多数腺病毒等也未能成功地提出无染性 DNA。

第三，如果病毒核酸为其感染性的唯一因素，那么在病毒繁殖过程中，抑制核酸的合成必定同时抑制其他病毒物质的合成，而抑制病毒蛋白质的合成至少不应该影响病毒核酸的合成。不少实验报告，在 TMV、流感、牛痘、脊髓灰白质炎和疱疹病毒感染时，加入 RNA 酶抑制细胞内 RNA 的合成，可以因而抑制了完整病毒的合成(Casterman 和 Jeener, 1955; LeClare, 1956; Tamm 和 Ballanian, 1960; Jeener, 1958)。但是另一方面，用对氟苯丙氨酸(FPA) 加入到脊髓灰白质炎病毒和西方马脑炎病毒感染的细胞培养中，除了抑制了病毒蛋白质的合成外，同时也抑制了病毒核酸(RNA) 的合成(Wecker 和 Schonne, 1961)。这些作者证明，FPA 可以结合到蛋白质中因而合成了异常的蛋白质，其对病毒核酸与蛋白质的抑制作用是平行的(图 1)。该作者认为，病毒核酸与病毒蛋白质在合成过程中相互间有密切的关系。

基于以上的分析，进一步研究和确定病毒核酸本身的感染力仍然是必要的。在这方面，首先应该设法将实际具有感染性的这一小部分的核酸分离出来，分析其化学组成和分子结构；进一步研究病毒核酸低感染性的原因——是否由于核酸酶的作用或与特

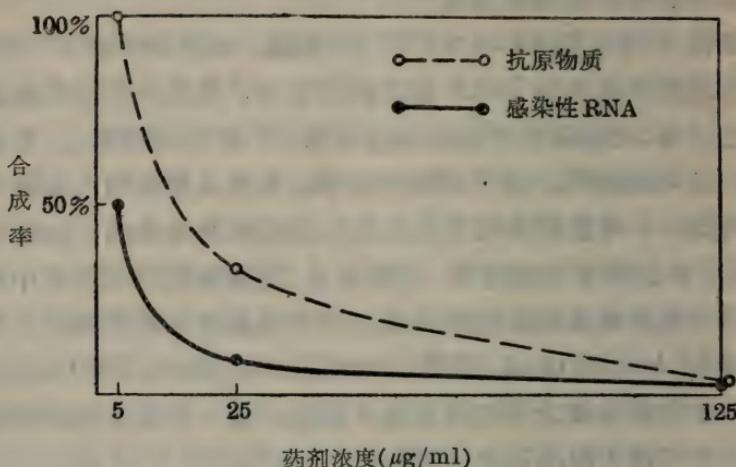


图1 FPA 对脊髓灰质炎病毒核酸和蛋白质的合成的影响  
(Wecker 等, 1962)

殊的核酸——蛋白质结构遭到破坏有关，以确定病毒蛋白质在病毒感染性方面所起的作用；此外，利用同位素研究各种病毒物质在侵入敏感细胞后的命运，并借以了解病毒核酸与病毒蛋白质在细胞内合成的位置及其内在的联系；最后设法从流感一类的病毒或其他DNA病毒分离感染性核酸，以肯定其作用。

解决病毒核酸作为病毒感染性的分子基础问题，将对生命的化学本质及其化学过程作重要的阐明，因此值得进一步研究。

## 二、病毒核酸与病毒变异的关系

若干作者报告，替换病毒核酸链上的嘌呤嘧啶碱或改变其位置曾引起病毒的变异。例如 Litman 等早于 1956 年即利用 5-溴尿嘧啶替换了噬菌体 DNA 的胸腺嘧啶而获得变株。但是，将变株继续传代时，5-溴尿嘧啶又重新被胸腺嘧啶所替换而不失去变株的性质。因此胸腺嘧啶的被替换不一定构成病毒变异的唯一原因。该替换本身可能间接地引起了某些实质的改变。

Gierer 和 Mundry 1958 年用  $HNO_2$  处理 TMV-RNA，他们的实验证明，只要在每 3,000 个单核苷酸中的 6% (180 个) 中有

1个氨基被替换即可引起病毒变异。Boeyé 在 1959 年也报告,用  $\text{HNO}_2$  处理脊髓灰白质炎病毒 RNA 后获得了变种。

但是上述 TMV 和脊髓灰白质炎病毒的变株与原株并没有截然的本质上的差异,其差别仅在于原毒株中变种的数量本来很少,而在  $\text{HNO}_2$  处理后其数量明显地增加了(图 2)。因此 Bawden

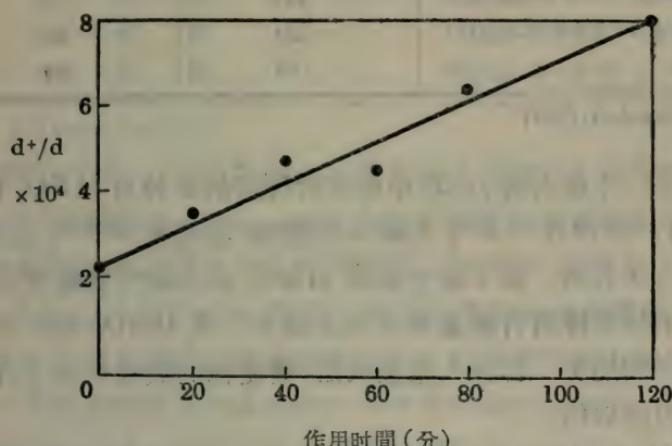


图 2 亚硝酸处理脊髓灰白质炎病毒 RNA 时对  $d^+ / d$  变株比例的影响  
(Boeyé, 1959)

1959年提出,大量变株的出现可能是淘汰的结果而非真的变异。他用 TMV 与番茄病毒混合进行感染试验,也观察到有如用  $\text{HNO}_2$  处理 TMV-RNA 的现象(表 1a, b)。Bawden 认为 TMV 病毒

表 1a 用亚硝酸处理 TMV-RNA 后引起毒株感染性的改变\*

处 理 时 间 (小时)	引 起 坏 死 病 变	
	Xanthi	Java
0.0	300	0.5
0.5	250	9
1	122	24
2	98	26
4	33	12
20	6	0.5

表 1b 不同病毒株相混合时感染性的改变\*

病 毒	引起坏死病变	
	Xanthi	Java
TMV 单独	500	3
TMV 2g/l+TAV 10mg/l	500	2
TMV 200mg/l+TAV 10mg/l	380	24
TMV 20mg/l+TAV 10mg/l	130	180
TAV 单独	95	240

\* (Bawden, 1959)

原来可能是一个混合株，在其中原先占优势的变种对  $HNO_2$  耐受性小，而另一变种对  $HNO_2$  的耐受性較强，因此在  $HNO_2$  处理后后者变为占优势的。除了該变株对  $HNO_2$  具有較大的耐受性外，也可能由于該毒株所占数量的百分比很少，在  $HNO_2$  的作用下，原占絕大多数的另一毒株大量被灭活，使变株的数量比例上升，因而轉变为占优势的。

虽然 Mundry 本人 (1959) 再提出新的實驗証據，証明亚硝酸确实引起 TMV 的变异，然而越来越多的實驗証明，从自然界分离到的許多病毒株原来均含有許多性质不同但抗原性相近的变种。例如曾利用空斑选种技术从脑心肌炎病毒 (Fuerst, 1961)、Mengo 脑炎(Ellem 和 Colter, 1961)、西方马脑炎(Ushiyima 等, 1962)和脊髓灰白质炎(Carp 和 Koproski, 1962)等病毒分离出不同的变种。因此在未能証明實驗中所用的毒株是否为一純系之前，如果观察到病毒性质的改变，除了考慮到变异的可能性外，还应考慮到淘汰的可能性。但是如果在化学药剂处理后出现了在原来的毒株中从来未曾见过的新变种，那么当然便有較多的根据来論断变异的可能性。

Wittman(1961), Tsugita 及 Fraenkel-Conrat(1961) 等曾分析用  $HNO_2$  处理所得的 TMV 变株的蛋白质，观察到其氨基酸含量与原毒株有不同(表 2)。但是如上节所述，在沒有確實証明所用病毒为一純系毒株 (即不含两种以上的具有不同生物性质的混

表 2 用亚硝酸处理 TMV-RNA 后病毒蛋白质氨基酸的替换

原来的氨基酸		替换的氨基酸
门冬酰胺	→	丙氨酸, 甘氨酸, 絲氨酸
谷氨酰胺	→	甘氨酸, 麒氨酸
异亮氨酸	→	麒麟酸
亮氨酸	→	苯丙氨酸
脯氨酸	→	亮氨酸, 絲氨酸
絲氨酸	→	脯氨酸, 苯丙氨酸

(Wittmann, 1961)

合颗粒)之前, 有可能怀疑这种差异确系核酸分子内核碱排列位置的改变所引起的。因此, 有关各变异毒株的氨基酸组成与其相应的核酸的结构之间的相互关系问题, 仍须进一步研究。

Lengyel 和 Ochoa 等近年来关于人工合成多聚核苷酸对氨基酸渗入蛋白质的影响的研究结果, 对核酸结构对相应的蛋白质分子中氨基酸排列的决定性作用曾作出重要的阐明, 这对于认识核酸与蛋白质合成的化学本质问题无疑大大地提高了一步。但是他们所提出的三联密码看来不适于解释病毒核酸与病毒蛋白质的关系问题。首先, 他们的三联密码中尿嘧啶的出现频率过高; 其次, 密码对氨基酸的专性不甚高。最近不少作者提出各种不含尿嘧啶的密码, 例如 Roberts (1962) 根据三联密码提出二联密码的假说, 从核碱含量方面看来似乎比较合理。但是根据他们的假设对若干病毒的计算结果与实际分析的结果不十分符合(表3)。看来, 关于病毒核酸分子中各核碱的排列位置与病毒蛋白质分子中氨基酸排列位置的相互关系这一问题, 还需要做很多的实验来阐明。

因此, 研究病毒核酸与病毒变异的关系, 首先应分离纯株, 研究各纯株的核酸与蛋白质的分子结构。在这方面病毒的提纯有重要意义。除了植物病毒以外, 目前只有个别的动物病毒(Schwardt 和 Schaffer, 1956; Faulkner 等, 1960; Levintow 和 Darnell, 1960)曾成功地获得纯净的结晶制品。而在所有的动植物病毒中,

表3 按双联密碼計算 TMV 和脊髓灰白質炎  
病毒的核碱含量与分析結果的比較

毒 株	碱 基			
	A	G	C	U
TMV 第1位置	14.0	23.8	35.4	26.7
	28.7	33.0	17.4	18.8
	27.1	20.5	25.9	26.5
Polio 第1位置	20.2	24.2	31.1	24.9
	32.0	29.5	22.8	16.1
	28.2	23.7	21.7	26.4

(Roberts, 1962; Schaffer 等, 1960)

只有 TMV 病毒的蛋白质結構曾被仔細地研究过。根据 TMV 病毒顆粒中的苏氨酸含量、半胱氨酸含量或根据对该病毒結晶进行 X-光衍射分析的結果，每个病毒顆粒中大約含有 2,800~3,300 个蛋白小单位，每个亚单位的分子量約为 15,000~18,000。化学分析証明，每个小单位大約由 157、158 或 164 个氨基酸組合起来的(不同作者的分析結果不同，是否由于毒株不同或所分析的毒株不純之故未明)。对这种病毒蛋白亚单位的氨基酸的排列位置最近已搞清楚 (Tsugita 等, 1960; Anderer, 1960)，但是对病毒核酸分子中各核碱的排列位置目前还缺乏有效的研究方法。繼續研究純系的病毒株的核酸和蛋白质結構是最基本的問題。观察用化学药剂(包括亚硝酸、嘌呤、嘧啶的衍生物或其他变异剂)，或物理方法(包括热、放射線等)处理純株的病毒核酸以后，其所合成的病毒的蛋白质亚单位的氨基酸組成和排列有何相应的和规律性的改变；研究自然变异株的核酸与蛋白质結構之間的规律关系；深入分析用不同毒株的核酸感染后所得的病毒株的抗原性；最后并研究病毒核酸分子中代表病毒致病性和其他生物学性质的各片段和基团的结构，以闡明病毒核酸的遗传信息問題。这些問題的解决，不但在理論上将闡明遗传变异的实质，而且，在实践上将有利于人工定向变异与人工改造病毒的工作，使有害的病毒反过来为人类的

健康服务。

許多病毒有所謂宿主誘導變異的現象，在改變宿主條件時便迅速改變了病毒的若干生物學性質(Hoskins, 1959)。由於這種改變很快(僅需在新的宿主體內傳1代)而且一般不能傳給下一代，很難想像這是由於病毒核酸的結構如此輕易地、反覆地改變著，以適應短暫的性質改變的需要。因此病毒的某些次要物質的合成是否與宿主細胞物質有 certain 的關係，這也是值得加以研究的問題。

### 三、病毒核酸和病毒蛋白质的生 物合成与病毒的代谢

考慮到病毒是一種結構最簡單的微生物，那麼，在其感染和繁殖的過程中，無疑地必定有物質代謝過程。根據病毒的嚴格的細胞內寄生性特點，病毒的代謝不可能與宿主細胞的物質代謝相互孤立來看。此外，由於構成病毒的最基本物質為核蛋白質，因此研究病毒的代謝目前着重在兩個方面：第一，受染細胞內病毒核酸和病毒蛋白質的合成功動態和化學藥劑對這些物質合成的影響；第二，與病毒核酸和病毒蛋白質的合成有密切關係的酶的研究，以了解這些物質的合成過程及其相互依賴關係。

為了研究病毒的代謝問題，首先要了解病毒在宿主細胞內的繁殖情況。病毒在細胞內的繁殖，一般可以分為四個階段：一、侵入——包括病毒顆粒吸附在細胞上、和感染性病毒物質(感染性核酸或在某些情況下可能是整個病毒顆粒)的侵入；二、黑暗期；三、成熟；四、釋放。在黑暗期中不能觀察到完整病毒顆粒的形成，而病毒的核酸和蛋白質則在此時期內(一般在感染細胞後的幾小時後)開始合成。

為了研究病毒核酸和蛋白質合成的先後、主從關係，曾利用各種抑制核酸合成的化學藥劑和抑制蛋白質合成的化學藥劑分別加到受染的細胞培養中，以觀察在某一方面的合成受到抑制時另一方面的合成情況。如果蛋白質的合成需要由核酸來支配，那麼，當核酸的合成受到抑制時，蛋白質的合成也必定停止，反之，如果抑

制蛋白质的合成时也影响了核酸的合成，便說明核酸的合成也需要蛋白质的作用。

上面提到 RNA 酶能够抑制流感、牛痘、单纯疱疹、TMV 等病毒在細胞內的繁殖，亦能抑制噬菌体在細菌体內的繁殖。此外，嘌呤、嘧啶的衍生物（例如 benzimidazole 及其衍生物）亦能抑制牛痘（Thompson 等，1950）、脊髓灰白质炎（Tamm, 1958）、春夏型脑炎（Friend, 1951）、鼠脑脊髓炎（Pearson 等, 1956）和噬菌体（Mathews 和 Smith, 1955）等病毒的繁殖。他如 5-氟尿嘧啶及其类似物能抑制脊髓灰白质炎病毒（Munyon 和 Salzman, 1962）、假狂犬病毒（Kaplan 和 Ben-Porat, 1961）等的繁殖。5-氟脱氧尿嘧啶及其衍生物和三氯化鈉則能抑制腺病毒和痘类病毒的繁殖（Kaplan 和 Ben-Porat, 1961; Easterbrook, 1961）。實驗証明，在上述物质的抑制下，核酸的合成受到抑制，結果完整的病毒顆粒未能合成。

但是另一方面，不少作者報告用氨基酸的衍生物如对氟苯丙氨酸（FPA）、5 甲基色氨酸和 Proflavine 及氯霉素等抑制蛋白质的合成时亦能阻止病毒核酸的合成。上述 Wecker 和 Schonne (1961), Wecker 等 (1962) 用 FPA 抑制脊髓灰白质炎病毒和西方马脑炎病毒的繁殖實驗，可供說明这种情况。此外 Levintow 等 (1962) 用少量 FPA 加到脊髓灰白质炎感染的細胞培养内，虽然可以合成一部分病毒核酸，但是利用同位素的研究証明，在病毒蛋白質被抑制的情况下所合成的病毒核酸，在用苯丙氨酸消除了 FPA 的作用以后，并不能結合到以后新合成的病毒顆粒中。該作者认为随着病毒蛋白質的重新合成，另外开始了一个病毒核酸的合成周期。

由此看来，病毒核酸和某些蛋白质的合成相互間有密切的关系。但是这些蛋白质是否即为病毒的特异性抗原物质，抑或为某种与病毒物质的合成有密切关系的新生的酶，尚不了解。

Tomizawa 和 Snnakawa (1955) 对噬菌体的研究中早已认为，在噬菌体 DNA 的合成以前需要先合成一种特殊蛋白质。其

后发现在噬菌体感染细菌后细菌体内的羟甲基脱氧胞核苷酸酶的活性迅速增加了数倍到十几倍(Flaks 和 Cohn, 1957; Bessman 和 van Bibber, 1959; Kornberg 等, 1959)。此外,还发现脱氧核糖核苷酸激酶和脱氧核糖核酸多聚酶活性的增加(Bells 等, 1961; Bessman 和 Bells, 1961; Aposhian 和 Kornberg, 1962)。

近年来发现在某些植物和动物病毒感染后细胞内的核糖核苷酸多聚酶或脱氧核糖核苷酸多聚酶的活性有显著增加(在 RNA 型病毒感染时前者增加,在 DNA 型病毒感染时后者增加)。例如 RNA 型病毒方面在 TMV(Kasasek 和 Schramm, 1962)、Mengo 病毒(Baltimore 和 Franklin, 1962)、脊髓灰白质炎病毒(Eggers 等, 1963)和流感病毒(Glasky 和 Helper, 1963)等感染后,受染细胞内核糖核苷酸多聚酶有明显的增加。

在 DNA 型病毒方面,在腺病毒 4 型与 5 型(Flanagan 和 Ginsberg, 1962)、牛痘病毒(Green 和 Pina, 1962; Magee, 1962)等感染后,细胞内的脱氧核糖核苷酸多聚酶活性有增加。

但是目前尚不了解这些在感染后增加的核苷酸多聚酶是否具有特异性——即是否为合成病毒核酸的特殊的多聚酶,抑或即细胞内原有的核苷酸多聚酶,而其所以能合成病毒核酸之故,仅仅是由于侵入细胞内的感染性核酸起了模板作用所致。在前一情况下,正常细胞多聚酶合成的多聚核苷酸在结构上和性质上应与受染细胞多聚酶所合成的有不同。在后一情况下,可能观察到正常和受染细胞的核苷酸多聚酶在用同一种核酸作为引物时所合成的多核苷酸具有相同的性质。

根据许多实验的结果,不论在病毒或病毒核酸感染后,均必须先经过一个缓慢时期,然后开始合成新的病毒核酸。如果认为这个缓慢时期的本质是病毒的感染性物质(或遗传因子)对细胞的核苷酸多聚酶的改造过程,那么可能推测合成病毒核酸的核苷酸多聚酶应有别于正常细胞的核苷酸多聚酶,换句话说,应该是具有特异性的。

对病毒蛋白质的合成方面还研究得很少。根据一些实验看来,

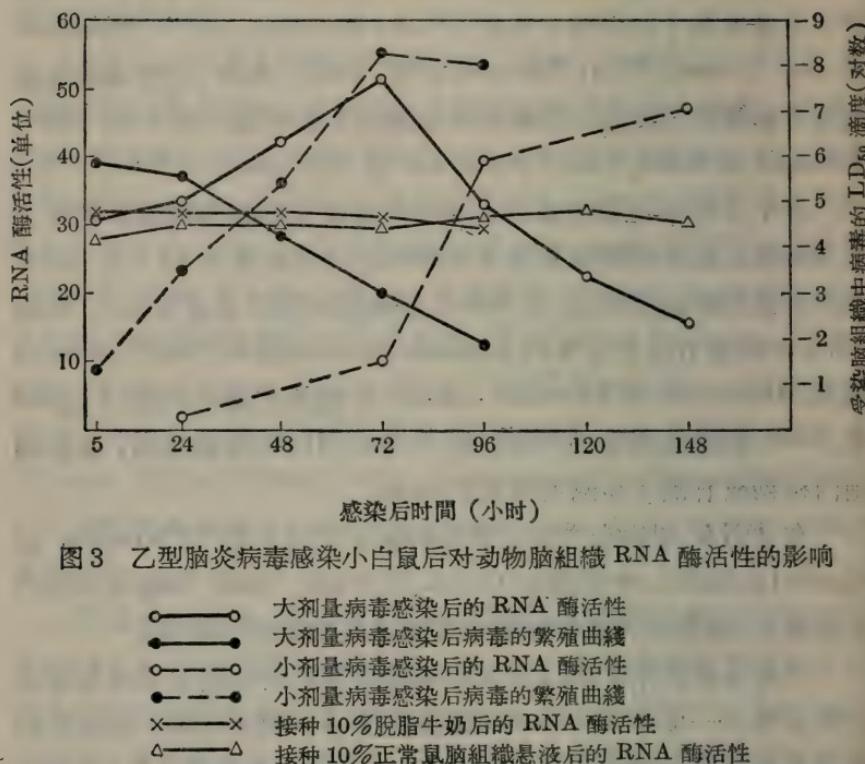


图3 乙型脑炎病毒感染小白鼠后对动物脑组织 RNA 酶活性的影响

- 大剂量病毒感染后的 RNA 酶活性
- 大剂量病毒感染后病毒的繁殖曲綫
- 小剂量病毒感染后的 RNA 酶活性
- 小剂量病毒感染后病毒的繁殖曲綫
- ×—× 接种 10% 脱脂牛奶后的 RNA 酶活性
- △—△ 接种 10% 正常鼠脑组织悬液后的 RNA 酶活性

病毒的特异性抗原物质的合成可能与核酶的合成同时开始 (Le-Brun, 1957; Darnell 等, 1961)。但是与病毒核酸的合成一样,仍需要一个缓慢期。此外,从化学抑制剂对两者均有抑制作用等情况看来,在病毒感染后感染性物质也可能同时对细胞内某些与蛋白质合成有关的酶进行了改造,产生了新的酶系。对这些問題进行深入研究,将有利于阐明病毒繁殖(包括病毒核酸和蛋白质的生物合成)的化学过程。

病毒感染除了引起细胞内与核酸合成有关的酶的增加以外,还引起一系列其他种酶活性的改变。

许多学者观察到,在若干嗜神经性病毒、脊髓灰白质炎病毒和流感病毒等繁殖时,受染组织中磷酸酶、醛缩酶和 ATP 酶等活性均有一定的改变,但是这些改变可能是非特异性刺激的结果。

Bauer 等(1956)报告若干嗜神經性病毒感染可引起宿主黃嘌呤氧化酶活性的增加。我們曾證明这和病毒的繁殖有密切的关系。最近我們还观察到乙型脑炎感染时引起宿主 RNA 酶活性的增加,然后降低到正常水平以下(图 3)。實驗材料証明 RNA 酶活性的改变随着接种的病毒量而有所不同。但是,这些酶具有什么特异性,其活性的变动是由于病毒繁殖所必需抑或由于宿主細胞抵抗的結果均尚待进一步闡明。了解机体对入侵的病毒进行抵抗的化学过程,对病毒性疾病的化学治疗的研究具有重要的理論意义。

總結以上所述,有关病毒的本质以及病毒核酸和病毒蛋白质的生物合成过程的研究,目前正处在一个新的阶段。现有的實驗材料提供了許多重要的論証,但是同时也仍然存在着不少問題尚待闡明。抓住這些問題的主要环节进行深入的實驗研究,为生物化学工作者在病毒学范畴内进行研究中的最迫切的任务。

## 参考文献

- Ada, G. L. & Lind, P. E., *Nature* **184**, 360, 1959.  
Alexander, H. E., Koch, G., Mountain, M. I., & Van Damme, O., *J. Exp. Med.* **108**, 493, 1958.  
Anderer, F. A., *Nature* **186**, 924, 1960.  
Aposhian, H. V. & Kornberg, A., *J. Biol. Chem.* **237**, 519, 1962.  
Bachrach, H. L., *Proc. Soc. Exp. Biol.* **107**, 610, 1961.  
Baltimore, D., & Franklin, R. M., *B. B. R. C.* **9**, 388, 1962.  
Bauer, D. J., & Bradley, P. L., *Brit. J. Exp. Path.* **37**, 447, 1956.  
Bawden, F. C., *Nature* **184**, BA 27, 1959.  
Bells, L. J., Van Bibber, M. J., & Bessman, M. J., *J. Biol. Chem.* **236**, 1461, 1961.  
Bessman, M. J., & Bells, L. J., *J. Biol. Chem.* **236**, PC 72, 1961.  
Bessman, M. J., & Van Bibber, M. J., *B. B. R. C.* **1**, 101, 1959.  
Benedict, A. A., & Lee, D., *Nature* **188**, 911, 1960.  
Boeyé, A., *Virology* **9**, 691, 1959.  
Brown, F., & Stewart, L., *Virology* **7**, 408, 1959.  
Carp, R. I., & Koprowski, H., *Virology* **17**, 99, 1962.

- Cochran, G. W., Welkie, G. W., Chidester, J. L., Chandrasekhar, B. K., & Lee, M. H., *Nature* **193**, 544, 1962.
- Colter, J. S., Bird, H. H., & Brown, R. A., *Nature* **179**, 859, 1957.
- Darnell, J. E. Jr., Levintow, L., Thoren, M. M., & Hooper, J. L., *Virology* **13**, 271, 1961.
- Eggers, H. J., Baltimore, D., & Tamm, I., *Virology* **21**, 281, 1963.
- Ellem, K. A. O., & Colter, J. S., *Virology* **15**, 113, 1961.
- Faulkner, P., Martin, E. M., Sved, S., & Work, T. S., *Nature* **186**, 908, 1960.
- Flaks, J. G., & Cohen, S. S. *Biochim. Biophys. Acta* **25**, 667, 1957.
- Flanagan, J. F., & Ginsberg, H. S., *J. Exp. Med.* **116**, 141, 1962.
- Fraenkel-Conrat, H., *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 802, 1956.
- Fraenkel-Conrat, H., Singer, B., & Tsugita, A., *Virology* **14**, 54, 1961.
- Friend, C., *Proc. Soc. Exp. Biol.* **78**, 150, 1951.
- Fuerst, C. R., *Virology* **13**, 553, 1961.
- Gierer, A., & Mundry, K. W., *Nature* **182**, 1475, 1958.
- Gierer, A., & Schramm, G., *Nature* **177**, 702, 1956.
- Gierer, A., & Schramm, G., *Z. Naturforsch.* **11b**, 138, 1956.
- Glasky, A. J., & Holper, J. C., *B. B. R. C.* **12**, 87, 1963.
- Green, M., & Piña, M., *Virology* **17**, 603, 1962.
- Heary, H. J. Jr., & Soper, W. T., *Bact. Proc.* p. 150, 1961.
- Hershey, A. D., & Chase, M., *J. Gen. Physiol.* **36**, 39, 1952.
- Hoskins, J. M., in "Virus Growth and Variation" Camb. Univ. Press, p. 122, 1959.
- Hoyle, L., & Finter, N. B., *J. Hyg.* **55**, 290, 1957.
- Huppert, J., & Sanders, F. K., *Nature* **182**, 515, 1958.
- Kaplan, A. S., & Ben-Porat, T., *Virology* **13**, 78, 1961.
- Kasasek, M., & Schramm, G., *B. B. R. C.* **9**, 63, 1962.
- Kornberg, A., Zimmerman, S. B., Kornberg, S. R., & Josse, J., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **45**, 772, 1959.
- LeBrun, J., *J. Ann. inst. Pasteur* **93**, 225, 1957.
- Levintow, L., & Darnell, J. E. Jr., *J. Biol. Chem.* **235**, 70, 1960.
- Levintow, L., Thoren, M. M., Darnell, J. E. Jr., & Hooper, J. L., *Virology* **16**, 220, 1962.
- Liebenow, W., & Schmidt, D., *Acta Virologica* **3**, 168, 1959.
- Lippincott, J. A., *Virology* **13**, 348, 1961.
- Magee, W. E., *Virology* **17**, 604, 1962.
- Mathews, R. E. F., & Smith, J. D., *Adv. Virus Res.* **3**, 49, 1955.
- Mayer, F., Mackal, R. P., Mabel, T., & Evans, E. A. Jr., *J. Biol. Chem.* **236**, 1141, 1961.

- Mundry, K. W., *Virology* **9**, 722, 1959.
- Munyon, W., & Salzman, N. P., *Virology* **18**, 95, 1962.
- Pearson, H. E., Lagerborg, D. L., & Visser, D. W., *Proc. Soc. Exp. Biol.* **93**, 61, 1956.
- Reddi, K. K., *Biochim. Biophys. Acta* **32**, 386, 1959.
- Roberts, R. B., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **48**, 1245, 1962.
- Schaffer, F. L., Moore, H. F., & Schwerdt, C. E., *Virology* **10**, 530, 1960.
- Schwerdt, C. E., & Schaffer, F. L., *Virology* **2**, 665, 1956.
- Sokol, F., Libikova, H., & Zemla, J., *Nature* **184**, 1581, 1959.
- Speyer, J. F., Lengyel, P., Basillio, C., & Ochoa, S., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **48**, 441, 1962.
- Sprunt, K., Koenig, S., & Alexander, H. E., *Virology* **13**, 135, 1961.
- Takahashi, W. N., Karler, A., & Knight, C. A., *Virology* **6**, 637, 1958.
- Tamm, I., *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* **8**, 178, 1958.
- Thompson, R. L., Price, M. L., Minton, S. A. Jr., Elion, G. B., & Hitchings, G. H., *J. Immunol.* **65**, 529, 1950.
- Tsugita, A., Gish, D. T., Young, J., Fraenkel-Conrat, H., Knight, C. A., & Stanley, W. M., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **46**, 1463, 1960.
- Wecker, E., *Virology* **7**, 241, 1959.
- Wecker, E., Hummeler, K., & Goetz, O., *Virology* **17**, 110, 1962.
- Wecker, E., & Schonne, E., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **47**, 278, 1961.
- Wittmann, H. G., *Naturwissenschaft* **48**, 729, 1961.
- Zimmerman, S. B., Kornberg, S. R., Josse, J., & Kornberg, A., *Fed. Proc.* **18**, 359, 1959.

# 放射生物化学的发展方向

沈 同

(北京大学生物学系)

电离辐射生物化学效应的文献是很多的。Ord 和 Stocken 曾綜合了 1959 年 2 月以前发表的 270 篇論文，在《原子核科学年評》上作了評述。瑞典 Errera 和 Forsberg 主編的《放射生物学机制》的第一卷（1961 年 8 月出版，尚未看到），登載有 Ord 和 Stocken 写的題为“活体和离体条件下的生物化学病灶”一文。Lajtha (1960)評述了“輻射对核酸代謝的效应”。在这次討論会上陆如山同志将作“放射生物化学的二个重要問題——能量代謝与核酸代謝”的报告。现在只預備就个人所知，作一些近期文献的补充介紹，并提出一些不成熟意见，为“放射生物化学发展方向”的討論做一个开场白。

## 一、电离辐射对生物大分子的影响

英国 Chester Betty 研究所的化学家們如 Alexander、Butler 等，各領導了一些系統的研究，就电离辐射对生物大分子在結晶状态及在水、氧或防护物质存在条件下的影响进行了研究。不同的电离辐射，例如电离密度稀的 X 線和密度浓的  $\alpha$  線，所产生的影响，在量和质方面都有差別。血清清蛋白、核糖核酸酶、色氨酸、酪氨酸及其他一些氨基酸的水溶液，受到 X 線或  $\beta$  線和  $\alpha$  線的照射产生了变化，这些变化可根据它們的光譜吸收及血清清蛋白的沉降来判断。 $\alpha$  線要比 X 線更容易破坏色氨酸的吲哚圈。半胱氨酸作为防护物质，只有在 X 線照射下才有防护效应，而在  $\alpha$  線照射时很少防护效应。Alexander<sup>[3]</sup> 等(1961)提出假設，认为 X 線通过水的自由基而破坏氨基酸，而  $\alpha$  線的作用則通过短寿命的分子产

物，首先破坏色氨酸分子或蛋白质分子中色氨酸部分。至于那短寿命的分子产物，则被假设为过氧化氢的亚稳激发态。

Alexander<sup>[2]</sup>等(1961)研究2 Mev 的电子在缺氧条件下对牛血清蛋白固体的效应。他们测定清蛋白分子中17个双硫键的情况。由于电子作用而有部分的硫键在一定条件下可以发生反应。一次初级电离可以揭露约25%的双硫键；经过两次电离后约有50%的双硫键可以发生反应。这时牛血清蛋白不再溶于水，但仍溶于盐溶液。照射剂量加大时则牛血清蛋白即不溶于水及盐溶液。Alexander 等设想辐射损伤有两种类型：第一类，破坏分子里的氢键，从而把分子“打开”；第二类，分子共价键的破坏，表现为氨基酸侧链的消失，羰基的出现，以及类似酰胺基的出现，经过温和水解后释放氨。照射时氧的存在可以进一步改变蛋白质分子的主链或侧链。

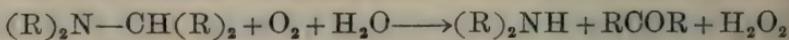
Alexander<sup>[15]</sup>等(1961)又研究脱氧核糖核酸(DNA)的凝胶经过照射后出现的交联反应和降解作用。DNA 吸收水分成为凝胶，制备成含有0%、0.5%、25% 和 400% 水的 DNA 凝胶。含有400% 水的 DNA 凝胶更接近于原生质。从鱼类精子中提取的核蛋白，进行照射观察，表明 DNA 凝胶试验的论据可以外推到核蛋白凝胶。DNA 凝胶用1~2 Mev 的电子照射，凝胶的变化表现在光散射、粘度、分子量和溶解度的测量上。DNA 分子受到照射的直接作用和间接作用，并且可能还有氧的效应，从而出现交联反应和降解作用，这些过程是极为复杂的。这个复杂过程根据试验结果被解释如下：电子对 DNA 分子的直接作用导致多核苷酸链的断裂，从而出现活性末端，在缺氧的条件下，这些活性末端可以在分子构型合适的地位，在分子内部结合起来，形成交联。DNA 分子在电子照射密度浓集的地点出现成双的断裂，从而形成 DNA 双链螺旋结构的“剪断”，出现降解作用。水的自由基导致 DNA 分子的断裂，所形成的末端并不具有反应的活跃性，因而不能形成 DNA 分子的交联。倘若 DNA 分子有两个相邻的这样的断裂，就可以造成主链的断裂，出现降解作用。

Butler<sup>[9]</sup> 等(1962)用 15 Mev 的电子流，照射时形成搏动的式样給出  $2.5 \times 10^7$  rad/sec 的电子剂量。照射对象为胰蛋白酶的固体和脱氧核糖核酸酶的水溶液。他們研究电离辐射钝化酶活力过程中的氧效应。当用大剂量照射固体胰蛋白酶时，未能观察到氧效应，这可能由于氧的反应相对迟缓的缘故。倘用低剂量照射固体胰蛋白酶时就能观察到氧效应。实验結果还表明固体胰蛋白酶的钝化剂量明显地依赖于酶的制备方法。估計一次电离至少可以钝化四个胰蛋白酶分子。半胱氨酸的防护作用被解释如下：半胱氨酸可以加速中和那些原始电离所产生的带电分子。Okada 及 Fletcher<sup>[18]</sup>(1962)发现脱氧核糖核酸酶溶液受到电离辐射的钝化作用是由于照射破坏了酶分子活动中心的色氨酸部分的缘故。

美国加利福尼亚大学的辐射实验室 Garrison 等<sup>[11, 26, 27]</sup>对于甲酸、甘氨酸及蛋白质水溶液进行照射研究。这些研究結果丰富了我們对于生物大分子放射化学的知识，甲酸的稀释水溶液在缺氧时受到质子或氢离子的照射后出现許多分子量高一些的产物，其中有草酸、乙醛酸、酒石酸等等。但是用中子或用  $\gamma$  线照射时则这些产物的产量极低。甘氨酸的稀释水溶液，在缺氧时受到  $\gamma$  线照射，形成自由基中间产物：



通过这些自由基中间产物的相互作用，产生乙酸、乙醛酸、琥珀酸、天门冬氨酸及二氨基琥珀酸等等；这些产物的形成和产量受到甘氨酸的浓度、pH 及氧等条件的影响，蛋白质水溶液由于照射引起的一些氧化作用，可用下列反应式表示之：



反应式表明蛋白质分子中  $-\text{N}-\text{C}-$  键的断裂，而沒有肽键的断裂。

Barker<sup>[8]</sup> 等研究葡萄糖的稀释水溶液在真空的条件下受到  $\gamma$  线的长期照射，可以形成酸性聚合物。关于核糖及 ATP、ADP 的

水溶液的X綫或 $\gamma$ 綫的照射效应也有一些研究工作。Scholes 及 Weiss (1954) 研究核酸、嘧啶碱基、核苷、核苷酸的水溶液受到 X 線照射时的变化，他們发现脱氨基过程、碱基杂環的打开、糖苷键的分裂，以及无机磷酸根的释放。Hems 等<sup>[18]</sup> (1958) 进一步用  $3 \times 10^5$  伦以下的 X 線照射  $C^{14}$ -ADP 的水溶液；运用  $260 m\mu$  光波吸收，及紙层析和放射自显影等技术，証明 ADP 經過 X 線照射后并不形成 AMP，但有腺嘌呤的脱落，此外尚有 7 种以上的照射产物，目前尚未认明是何种产物。AMP 及 ATP 溶液經照射后亦出现腺嘌呤的脱落。Vaisey 等<sup>[28]</sup> (1962) 用钴 60 的  $\gamma$  綫  $6 \times 10^5$  伦照射 ATP 溶液，导致腺嘌呤的释出和核糖的破坏。射綫对 ATP 分子的原始损伤被认为是处在核糖分子的第一个碳原子上。

此外，电离辐射对細胞核內 DPN-焦磷酸化酶<sup>[1]</sup>、細胞色素及血紅蛋白<sup>[4]</sup>、牛血纤蛋白原<sup>[18]</sup>、骨胶原<sup>[7]</sup>的作用也須提一下：分离并提出大鼠胸腺及肝的細胞核經過 X 線 120,000 伦的照射，对于核中 DPN-焦磷酸化酶的活力并无影响。大鼠全身被 X 線 900 伦的照射，核中的 DPN- 焦磷酸化酶的米氏常数測定并无变化。細胞色素 c 及血紅蛋白的水溶液受到  $\gamma$  射綫  $10^5 \sim 5 \times 10^7$  伦的照射后可有下列許多变化：轉化为不溶化的蛋白质聚集体，分子被剪断，蛋白质分子中蛋氨酸、組氨酸、苯丙氨酸、胱氨酸、絲氨酸及酥氨酸的破坏，以及生物氧化还原及运输氧功能的消失等等。分析各部分照射产物的結果表明不溶蛋白质聚集体并不是通过交联、变性等比較單純的机制形成的，而是通过溶于水的产物和不溶于水的产物之間反复互相作用的复杂机制而形成的。牛血纤蛋白原在无水情况下經過高速电子的照射，然后溶于  $0.5 N$  NaCl 中即显示出沉降及粘度的变化。牛血纤蛋白原分子的碎片再聚集成不溶于水的聚集体。骨胶原經過高剂量的  $\gamma$  綫照射，引起分子的破碎，碎片中缺少肽鍵的断裂，而有一-N-C-鍵的断裂，这正是 Garrison 等所已发见的蛋白质射綫损伤过程。

总之，电离辐射对生物大分子的影响的許多科学資料表明：  
(1)須用很大，或較大的照射剂量才能使离体的生物大分子发生变

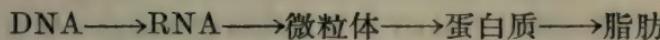
化。(2)不同质的射线，例如X线和 $\alpha$ 线，具有不同的化学效应。(3)水、氧及防护物质或杂质的存在，能够影响射线对生物大分子的效应。(4)射线直接作用或通过水的电离产物间接作用于生物大分子，很容易破坏氨基酸的杂环、苯环、OH—、SH—、CH<sub>3</sub>—S—基团，及糖和碱基的环结构；并破坏生物大分子中的氢键、酯键及—C—N—键等等。(5)射线导致生物大分子的降解、交联、或聚集，从而改变它们的物理化学性质和生物学性质。现有资料尚不能就电离辐射对生物大分子的作用机制提供明确的答案。此外，对于各种质量的射线对于各种生物大分子在不同条件下的生物化学效应尚缺乏详尽的比较研究。

以上这些研究，属于放射化学的范围；同时也是放射生物化学的重要领域，倘若我们不了解在离体条件下电离辐射对生物大分子的影响，就不能很好地理解电离辐射对细胞及生物整体的影响。此外，这些放射生物化学的基础知识，对于生产实践也具有密切的联系：例如，利用电离辐射来保藏粮食、蔬菜和肉类等等。Duran及Tappel(1958)<sup>[10]</sup>研究氨基酸的照射产物，目的就是为了解决食品保藏的实践问题。又例如电离辐射对制革工业<sup>[7]</sup>；探索由糖类合成高聚物的可能性<sup>[6]</sup>；以及电离辐射在医药上的应用等等；这些都是这类基本理论研究紧密联系实际的例子。这方面的研究还有很广阔的发展远景。

## 二、电离辐射对细胞的影响

美国耶鲁大学生物物理系的Pollard等<sup>[19~20]</sup>(1961)对电离辐射影响大肠杆菌的代谢进行了系统的研究。他们所用的射源为钴60；观察的指标是P<sup>32</sup>O<sub>4</sub>、S<sup>35</sup>O<sub>4</sub>的摄入过程；观察的代谢过程是：DNA和脂肪的形成及 $\beta$ -半乳糖苷酶的诱导和形成。首先观察到的是电离辐射对DNA形成的影响。至于其他所说的代谢过程都需用6万伦以上的照射，才能在照后观察到其变化。照射以后的后期，放射性磷和硫的摄入速度显著下降，观察结果表明电离辐射对于细胞核质的损伤是损伤过程的开始。这个损伤过程的

順序如下：



Pollard 等又进行了氧效应的研究。大肠杆菌在受到  $\gamma$  线照射时，在培养皿中通以氧气或硫气气泡。观察指标仍是磷 32 和硫 35 的摄入过程。摄入过程以图来表示，横轴为时间，纵轴为摄入量。在正常的大肠杆菌来说，磷 32 和硫 35 的摄入曲线都表明是指数的增长；而在  $\gamma$  线照射一定时期后，磷 32 和硫 35 的摄入曲线由指数的增长转变为线性的增长。氧效应则在于缩短这个转变所需的时间，同时也在线性曲线开始的时候减低放射性磷和硫的摄入速率。

Jacobson<sup>[14]</sup> (1962) 用 4~9 千伦的 X 线照射一种单细胞生物——衣藻，发现单核的大细胞受到照射后核退化；随后细胞溶化。但是在细胞分裂过程中单核分裂为具有两核及具有四核的个体，再通过细胞的分裂形成年幼的单核细胞，在这个过程中没有核退化及细胞溶化现象的出现。在这里值得提出的是电离辐射首先影响细胞核。正如 Pollard 等所发现的，电离辐射对于大肠杆菌的影响，也是首先损伤细胞核质。

关于细胞核及电离辐射对细胞核的影响，可参考英国剑桥大学 Mitchell (1960) 主编的《细胞核讨论会文集》<sup>[24]</sup>，兹不赘述。Mitchell 在该文集的前言中说，自从 Schleiden (1838) 和 Schwann (1839) 建立了细胞学以来，细胞核在细胞功能中所起的主导作用一直是历来细胞学研究的课题。从基本理论的角度来探讨细胞核的分子结构和细胞核的生物化学就是该讨论会的内容。而这个学术讨论会是在放射医疗系举行的，因此电离辐射对细胞核功能的影响又很自然地成为讨论会的一个重要内容。生物化学最近发展趋势，已由分子水平的研究进入到联系细胞精细结构水平的研究。近几年来的生物化学文献多涉及到细胞精细结构，例如线粒体、微粒体、核膜微粒（亦译作核糖蛋白体）、细胞核等等。库津 (1962)<sup>[25]</sup> 关于“代谢破坏在细胞辐射损伤中的作用”一文，较详细地讨论了电离辐射对细胞结构和代谢影响方面的問題。现在只就电离辐射破坏细胞膜结构一点来说：关于较小的照射剂量即能损

伤細胞膜结构(核膜、綫粒体膜等)的事实已被人所认识。但膜结构是由两层蛋白质分子层，中間夹着磷脂的双层分子所組成，而射線能量如何落入其中而产生破坏作用(直接作用)，或通过水的电离产物而破坏了这些蛋白质及磷脂的分子結構(間接作用)，此外，射線如何引起核固縮，导致分裂細胞染色体的畸变等等，这些研究課題将是細胞学与生物化学、放射生物学的共同課題，也是放射生物化学的一个重要生长点。

### 三、电离辐射对动物整体的影响

放射生物化学不只是生物化学的一个分支，也是原子核科学的一个組成部分。它和一个重大的任务——放射病的防护与治疗密切联系在一起。因此，关于电离辐射对生物大分子及对細胞的影响的研究(就这个任务來說)，也只是为了更好地理解电离辐射对动物整体的影响提供必要的基础知識。而对实验动物整体的研究，也只是为了进一步理解电离辐射对人体的影响提供必要的参考資料和外推的基础。现在就来介紹有关人体的資料。Gerber 等<sup>[12]</sup> (1961) 观察了反应堆工作人員因失事而受到电离辐射照射后尿中所排出的几种代謝物。受害者的照射剂量估計为 100~4000 伦，从照射到尿的检查有不同的時間間隔。因此尿中代謝物含量不尽相同；这些尿中排出的代謝物有机酸、 $\gamma$ -氨基异丁酸、吡咯羧酸及“游离”的羟脯氨酸。关于人体的观察总是极为有限的。我們必須累积实验动物的資料，并由动物实验的論据外推到人体。至于如何外推呢？这也是一个急需研究的課題。Michaelson 及 Odland (1962)<sup>[16]</sup> 探討了基底代謝率与辐射损伤的恢复之間的联系。为了探討的便利，假設了半恢复期这一个时间；假設初始的辐射损伤經過这个半恢复期，初始损伤的 50% 得到恢复。辐射损伤中有些可以恢复，有些不能恢复。现在假設了这个半恢复期，便于比較研究。我們可以累积許多种实验动物的半恢复期的数据，然后把这些数据和基底代謝率联系起来(反比例的关系)，从而估計人体的半恢复期，Michaelson 及 Odland (1962) 的

估計為 15~22 天之間。他們的各種數據的排列如下：

表 1 基底代謝率與輻射損傷的恢復  
(Michaelson 及 Odland 1962)<sup>[1]</sup>

物 种	基底代謝率 (仟卡/公斤/天)	半恢复期 (天)	白血球在 LD <sub>50</sub> (30) 照射後降到最低值所 需時間(天)
小 鼠	158	1.6~7.4	6
田 鼠	—	6.1	8
大 鼠	100	4.9~8.5	10
恒 河 猴	48	4.8	15
犬	36	7~14	17
綿 羊	26	—	18
人	24	—	—
驴	18	20~28	21
牛	14	—	23

Michaelson 及 Odland 的工作當然只是一個嘗試。半恢复期的估計顯然是很複雜的。有許多問題例如損傷的性質和程度，以及損傷可恢复和不可恢复部分的內容等等都不清楚。並且，基底代謝率仅仅是能量代謝的一個指標，不能作為全部代謝的一個總指標。此外，各種哺乳動物代謝的差異是複雜的。Angel 及 Noonan<sup>[5]</sup> (1961) 研究了 4 種哺乳動物：大鼠、豚鼠、兔和狗，在受到 X 線 800~1070 伦的全身照射後尿中牛磺酸的排泄。排泄物的測定結果表明這 4 種動物的反應是很不相同的。大鼠在照後即出現牛磺酸排出的高峰，這和人体的觀察結果很相似；豚鼠根本沒有排出的高峰；兔的結果很不一律，有的不出現高峰，有的在照後 3 天內出現波動式的增高；狗則有的在臨死前出現大量牛磺酸的排出，有的在照後兩個時期出現排出增多。看上去，動物對照射後在牛磺酸排泄這個反應上既有種的差別，也存在個體間的差別。

人們為了給放射病找尋早期生物化學方面的診斷指標，常在血尿檢查方面着想。Brent 等<sup>[8]</sup> (1958) 用 700 伦照射兔和大鼠的全身后，檢查血清轉氨酶活力的變化，他們沒有得到預期的結果；

只是兔在照后 24 小时酶活力似乎稍有增高。在大鼠的情形，即使用 5,000 伦照射肝脏，亦沒有酶活力的增高。他們认为这种酶活力的检验是没有应用价值的，它不能作为照射剂量的生物学测定。并且酶活力的增高与动物死亡之間也沒有什么相关。作者还指出，文献上关于用致死剂量或亚致死剂量照射哺乳动物，所有酶活力的测定，都表明酶对于这样水平的剂量是不敏感的。

Tabachnick<sup>[25]</sup>(1961) 从病理学家的角度来探討哺乳动物經照射后核糖核酸酶活力的变化。他用鈸 90-釔 90 源的  $\beta$  線照射豚鼠的皮肤，一次皮肤表面剂量为 3000 rep，他找到在 pH 7.7 时测定的表皮核糖核酸酶活力有增加，在照后的第 2 星期增加到最高峰，約比对照值高 3 倍。作者认为酶活力的增高是細胞对损伤的普遍性反应。辐射可能也跟其他损伤一样，可以导致細胞的自溶过程，在这过程中酶被释出或酶的抑制物被破坏；因此有酶活力逐渐增高的表现。

关于細胞受到照射后释出酶分子的推測，已經有一些實驗証据表明照射可以破坏線粒体的膜和核的膜；电子显微鏡研究所得証据最为明显。从生物化学來說，膜的結構是脂蛋白組成的，所以照射可能引起血中脂蛋白的变化。在这里我們來介紹 Rehnborg 等<sup>[21]</sup>(1962)的研究，也許是有意义的。他們比較研究照射小鼠和饥饿小鼠血浆脂蛋白的变化。他們发见两类情况是不完全相同的。血浆脂蛋白按它們的密度分为低密度脂蛋白和高密度脂蛋白两种，低密度脂蛋白在两类情况下都是下降的；但是高密度脂蛋白及磷脂在饥饿情況下是增高的，并且脂肪酸在脂蛋白及甘油酯中的分布在两类情况下也是有差异的。

放射病的一个重要征象是抗体形成的受到抑制，这是蛋白质合成受到破坏的一个表现。Salerno 等<sup>[22]</sup>(1958) 比較 X 線外照射和磷 32、金 198 內照射对大鼠体内抗綿羊紅血球的抗体合成的影响。Salerno 等发见 X 線剂量須超过 390 伦的閾線，并且要照射大鼠全身，才能抑制抗体的形成。这个抑制效应和腎上腺的功能是无关的。大剂量的磷 32 并不能产生抑制抗体形成的效应。胶体

金 198 注入身体后 6 天，再引入抗原，能部分地抑制抗体的形成。

談了蛋白质合成，也須談談核酸代謝。美国密悉根大学已故的 Potter 等<sup>[17]</sup> (1962) 曾进行了关于大鼠各种組織的 DNA 代謝受到电离辐射影响的系統研究。他們所发表的第 4 篇論文，報告了照射的早期效应。大鼠活体内脾和小肠的 DNA 合成是他們的研究对象。胸腺嘧啶核苷 -2-C<sup>14</sup> 在注入身体后 8 分钟的短时期內参入 DNA 的情况，作为测量 DNA 合成的指标。并且所注入胸腺嘧啶核苷的参入，是在照射后第一个 2½ 小时內进行測量的。全身照射剂量是鉻 60 的  $\gamma$  線 125~4600 rep，測定結果表明：碳 14 的参入脾和小肠的 DNA 很快受到抑制。照射剂量小一些时，这种抑制作用出现暫時性的恢复，但是随后就出現不断的和长期的碳 14 参入的下降，脾內的胸腺嘧啶核苷的磷酸化过程受到照射抑制的程度較浅，不能用以說明碳 14 参入脾中 DNA 速率減低的全部事实。总之，根据所得結果，还不能就下断語，认为这些早期反应即能表明照射对 DNA 合成過程的直接效应。就照射后期來說，那末 DNA 合成的延迟和細胞的死亡，也許可以用来解释碳 14 参入 DNA 速率下降的现象。

以上只介紹了少数几篇較近期的論文，說明电离辐射对动物整体的脂肪代謝、蛋白质和核酸代謝的影响。Hollaender (1960) 主編的专著《輻射防护和恢复》，总结了这方面的基本知識，值得参考。关于整体动物研究的重点，應該是整体动物机能的协调和代謝的协调；但是目前关于照射影响神經体液調節的生物化学方面的研究还是极少的。在这一方面有极为广闊的領域。很可能放射生物化学的研究，还可以反过来促进正常的机能生物化学的发展。

最后提一下电离辐射促进植物生长发育和誘导微生物、植物、动物的变异。这一方面生物化学的研究是具有不小的实践意义和理論意义的；也是放射生物化学发展的重要方向之一。

## 参考文献

- [1] Adelstein, S. J. and Biggs, S. L., The effects of X-irradiation on the enzymatic activity of nuclear DPN-pyrophosphorylase *Radiation Research* **16**, 422, 1962.
- [2] Alexander, P. and Hamilton, L. D. G., Irradiation of proteins in the solid state III. Influence of oxygen and absorbed water on changes produced in bovine serum albumin *Radiation Research* **15**, 193, 1961.
- [3] Alexander, P. and Rosen, D., A comparison of the effects of X-rays and  $\alpha$ -rays on some proteins and amino acids in dilute aqueous solution *Radiation Research* **15**, 475, 1961.
- [4] Ambe, K. S., Kumta, U. S. and Tappel, A. L., Radiation damage to cytochrome c and hemoglobin *Radiation Research* **15**, 709, 1961.
- [5] Angel, C. R. and Noonan, T. R., Urinary taurine excretion and the partition of sulfur in four species of mammals after whole-body X-irradiation *Radiation Research* **15**, 298, 1961.
- [6] Barker, S. A., Lloyd, I. R. L. and Stacey, M., Polymerization of glucose induced by  $\gamma$  radiation *Radiation Research* **16**, 224, 1962.
- [7] Bowes, J. H. and Moss, J. A., The effect of  $\gamma$  radiation on collagen *Radiation Research* **16**, 211, 1962.
- [8] Brent, R. L., McLaughlin, M. M. and Stabile, J. N., The effect of irradiation on the serum glutamic oxalacetic transaminase level *Radiation Research* **9**, 24, 1958.
- [9] Butler, J. A. V. and Robins, A. B., Effects of oxygen on the inactivation of enzymes by ionizing radiations II. Solid trypsin and deoxyribonuclease *Radiation Research* **17**, 63, 1962.
- [10] Duran, L. and Tappel, A. L., Production of carbonyl compounds and sulfur compounds on irradiation of amino acids *Radiation Research* **9**, 498, 1958.
- [11] Garrison, W. M., Bennett, W. and Cole, S., Synthesis of products of higher molecular weight in the radiolysis of aqueous solutions of formic acid *Radiation Research* **9**, 647, 1958.
- [12] Gerber, G., Gerber, G., Kurohara, S., Altman, K. I. and Hempelmann, L. H., Urinary excretion of several metabolites in persons accidentally exposed to ionizing radiation *Radiation Research* **15**, 314, 1961.

- [13] Hems, G. and Eidinoff, M. L., Effect of X-radiation on aqueous solutions of ADP *Radiation Research* **9**, 305, 1958.
- [14] Jacobson, B. S., Relationships between cell division and death in X-irradiated Chlamydomonas cultures *Radiation Research* **17**, 821, 1962.
- [15] Lett, J. T. and Alexander, P., Crosslinking and degradation of DNA gels with varying water contents when irradiated with electrons *Radiation Research* **15**, 159, 1961.
- [16] Michaelson, S. M. and Odland, L. T., Relationship between metabolic rate and recovery from radiation injury *Radiation Research* **16**, 281, 1962.
- [17] Nygaard, O. F. and Potter, R. L., Effect of radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat. IV. Early effects *Radiation Research* **16**, 243, 1962.
- [18] Okada, S. and Fletcher, G., Active site of deoxyribonuclease I. II. The mechanisms of the radiation-induced inactivation of deoxyribonuclease I in aqueous solution *Radiation Research* **16**, 646, 1962.
- [19] Pollard, E. and Macauley, P., The effect of oxygen during irradiation on the uptake of phosphorus and sulfur by irradiated cells of *Escherichia coli* *Radiation Research* **15**, 120, 1961.
- [20] Pollard, E. and Vogler, C., Radiation action on some metabolic processes in *Escherichia coli* *Radiation Research* **15**, 109, 1961.
- [21] Rehnborg, C. S., Ashikawa, J. K. and Nicholes, A. V., Comparison of the effects of whole-body X-irradiation and fasting on the plasma lipids of mice *Radiation Research* **16**, 860, 1962.
- [22] Salerno, P. R. and Friedell, H. L., A comparison of the effects of radioactive internal emitter and X-rays on antibody formation *Radiation Research* **9**, 478, 1958.
- [23] Setlow, R. B. and Setlow, J. K., Evidence that ultraviolet-induced thymine dimers in DNA cause biological damage. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **48**, 1250, 1962.
- [24] Sowinski, R., Oharenko, L. and Koenig, V. L., Physicochemical effects of radiation III. Effects of high-speed electrons on bovine fibrinogen as revealed by the ultracentrifuge and viscosity *Radiation Research* **9**, 229, 1958.
- [25] Tabachnick, J., Enzymatic changes in  $\beta$ -irradiated epidermis of guinea pigs. I. Free and inhibitor-bound ribonuclease *Radiation Research* **15**, 785, 1961.

- [26] Warren, M., Garrison, W. M., Jayko, M. E. and Bennett, W., Radiation-induced oxidation of protein in aqueous solution *Radiation Research* **16**, 483, 1962.
- [27] Weeks, B. M. and Garrison, W. M., Radiolysis of aqueous solutions of glycine *Radiation Research* **9**, 291, 1958.
- [28] Vaisey, E. B. and Thatcher, F. S., Effect of  $\gamma$  rays on solutions of ATP and ribose *Radiation Research* **17**, 74, 1962.

# 放射生物化学中有关能量代謝 和核酸代謝的問題

陆如山

(中国医学科学院)

电离辐射引起代謝过程的改变，以及这些变化在放射损伤发展过程中的意义是放射生物化学中重要研究課題。大家知道，照射时的瞬間( $10^{-16}$  秒)生物机体中的各种物质，吸收辐射能量产生了电离或激发分子。这两种状态极不稳定，立即在非常短暫的時間內 ( $10^{-5}$  秒) 通过直接作用和因水分子电离后产生的各种自由基的間接作用，以及一系列的鏈鎖反应，使生命活动极为重要的高分子物质(核酸、蛋白质)的各种结构和某些基团遭到破坏，从而导致它們的生物活性改变，这些都构成了随之而来的細胞损伤和細胞代謝失常的原因。尤其在最近十年中，由于新技术的应用(如超速离心法、細胞分光光度法、同位素示踪法、放射自摄影法等)和选用了适当的實驗材料(如肿瘤細胞、离体細胞培养、細菌等)，使这一領域中不同水平(亚細胞、細胞、整体)的研究在现代生物化学成就的基础上有了很大的进展<sup>[1,7,8,13,37,52,54,57,116]</sup>。

在电离辐射对代謝影响的研究中，人們对能量代謝和核酸代謝予以很大重視，本文就这二問題作一介紹。

## 一、能 量 代 謝

在生命活动的各种过程中能量供应是必不可少的重要环节，而在能量代謝中高能磷酸鍵又占着中心地位。因此在研究辐射的生化效应时，很自然的注意到高能磷酸鍵合成的磷酸化問題。

### (一) 线粒体氧化磷酸化作用

1952年 Potter 和 Bethell<sup>[109]</sup> 以琥珀酸为底物首先发现經800伦X线全身照射后1小时，大鼠脾线粒体制剂中P/O比值下降，并指出2,000伦X线照射离体线粒体并不影响氧化磷酸化作用。以后，Thomson 等人<sup>[117]</sup>証明以800伦γ线照射大鼠3小时后，胸腺匀浆的酯化无机磷酸盐的能力丧失大半。Goldfeder<sup>[50]</sup>在小鼠肝线粒体中也观察到全身照射引起P/O比值减少，这一效应与动物性别有关，P/O值下降以雄性动物更为显著。小鼠經640伦照射后脾线粒体中的情况与此相似<sup>[12,81]</sup>。然而，Florsheim等<sup>[46,47]</sup>报导了大剂量照射(20,000伦)对小鼠脑和肝摄取P<sup>32</sup>的量并无影响。

van Bekkum 及其同事們<sup>[14~17]</sup>曾系統地以不同剂量(50~1,100伦)X线照射大、小鼠，并在照射后的不同时间中分离多种组织的线粒体，他們以琥珀酸、α-酮戊二酸为底物观察射线作用对线粒体氧化磷酸化的影响，获得下列事实：(1)放射敏感的组织，如脾和胸腺氧化磷酸化明显的抑制，經50或100伦的剂量照射后4小时已发现P/O比值下降。經700伦照射后2小时脾中氧化磷酸化抑制效应已达25%，然而肝、再生肝及肿瘤组织中，即使在上述剂量照射后4小时或增加照射剂量均不出现任何影响。Голубенцев<sup>[4]</sup>的研究中，也表明900伦照射，在大鼠脾、小肠中磷酸化作用明显下降，約為原水平的一半，而肝和肌肉中則无变化。(2)形态学观察发现細胞核变化較线粒体的氧化磷酸化抑制效应出现为早；在照射后15分钟分裂指数已有下降，照射后1小时某些細胞中已发生核变性现象，而磷酸化过程只在2小时以后才有改变。(3)局部照射手术外露的脾脏，其线粒体磷酸化过程受阻的程度与全身照射的后果相似。看来，射线的直接作用是抑制效应的主要原因。作者們也进一步以P<sup>32</sup>参入腺三磷(ATP)的速度观察照射后对整体內氧化磷酸化作用的影响，发现在脾和胸腺中ATP的合成减少与离体測定的結果相符<sup>[18]</sup>。这在最近 Bettendorff<sup>[25]</sup>等

人的工作里也得到了証实。

至于分离的綫粒体經射線直接照射后又出现了另一种情况。即使照射剂量增大至几千或几万伦时，仅能使动物(鼠)脾或肝綫粒体中的磷酸化过程发生輕度改变<sup>[95, 107, 125]</sup>。整体与离体条件下有效剂量相差悬殊的原因，显然与綫粒体功能状态有关。Silk 等<sup>[112]</sup>指出，在整体动物中照射对氧化磷酸化的影响可能是一种間接效应。而在正常生理条件下神經、內分泌激素作用的影响是值得重視的，如 Benjamin 和 Yost<sup>[21]</sup>的工作充分証明整体照射所致“放射敏感”組織綫粒体氧化磷酸化过程的抑制与脑垂体功能的活化有着密切关系，即脑垂体激素通过对甲状腺和肾上腺激素的控制，使哺乳动物的各种組織綫粒体产生高能磷酸化合物的能力大为下降。

照射后綫粒体中氧化磷酸化破坏的另一个原因，可能是腺三磷酶(ATP酶)活力升高引起的继发效应，Ashwell 和 Hickman<sup>[12]</sup>以及 Dubois<sup>[41]</sup>曾报导X綫致死剂量全身照射使大、小鼠脾匀浆ATP 酶的活力有了升高。而 Maxwell 等<sup>[81]</sup>认为 ATP 酶与脾綫粒体磷酸化作用的破坏无关；作者指出，在測定氧化磷酸化反应的系統中加入了氟化鈉，后者有效地抑制 ATP 酶的活力，而磷酸化作用仍出现明显障碍。van Bekkum 进一步指出，氧化磷酸化受阻发生較早，通常在照后几小时就出现，ATP 酶活力在照后一昼夜仍波动在正常范围之内。許多實驗也証明磷酸化过程的失調也非无氧酵解减低所导致<sup>[14]</sup>。在照射后的短時間內脾匀浆中加入細胞色素 c 可使磷酸化过程恢复正常。然而 Zins 等<sup>[126]</sup>指出，X綫照射对大鼠組織中細胞色素 c 并无抑制作用，因此大鼠脾綫粒体中細胞色素 c 的缺乏，可能是由于顆粒結構改变，引起細胞色素 c 释放的結果，而非色素本身的蛋白破坏。

## (二) 核磷酸化作用

1957年 Osawa 等人<sup>[101]</sup>发现以蔗糖液将小牛胸腺制成匀浆，离心分出細胞核，后者具有使核苷酸进行磷酸化的能力。并指出

只有細胞核中的結合核苷酸能被磷酸化，外加的单核苷酸則无作用。在这一反应进行时氧的存在是必要的条件。随后 Creasey 和 Stocken<sup>[85]</sup> 系統地对大鼠各种組織的細胞核进行了观察，发现只有“放射敏感”組織(胸腺、脾、淋巴結、骨髓、肠粘膜)的細胞核具有使結合核苷酸磷酸化的能力，但“放射稳定”組織(腎、肝、脑、胰)的細细胞核不具有这一作用。在研究电离辐射对这一作用影响时，发现 100 伦 X 線全身照射后<sup>[86]</sup> 1 小时大鼠細胞核混悬液合成高能磷酸盐的能力完全丧失。这一现象，甚至在照射后 3~5 分钟已能察觉，当照射剂量小至 25 伦时已足以引起 50~80% 的抑制。此外，作者对辐射作用后脾和胸腺細胞核磷酸化能力的恢复时间也进行了研究，指出在小剂量照射(100 伦)后的 100 小时核磷酸化能力完全恢复，当照射剂量增大时(1,000 伦)，即导致不可逆的改变。离体的脾和胸腺細胞核經  $\gamma$  線(鐳)在 0°C 时的直接照射后，磷酸化过程受抑制的程度較整体照射时更为严重，44 伦已使磷酸化作用完全停止。作者指出，在整体条件下細胞的自然环境对細胞核具有保护作用。放射防护药物的应用能使核磷酸化作用受损的程度減輕；尤其值得注意的事实，是在照射前 5 分钟肌肉注入半胱胺使 100 伦 X 線全身照射的大鼠胸腺和脾細胞核磷酸化的恢复过程明显提前，在照后 48 小时核磷酸化的能力已接近于正常。

以上材料表明电离辐射对机体高能磷酸化合物的合成产生了抑制作用，这一效应又与細胞器(細胞核、綫粒体)的完整性密切相关。从磷酸化作用发生变化的时间上看，照射后核磷酸化的破坏似为早期的生化改变；而綫粒体中的氧化磷酸化过程，一般只在照射后 2 小时才发生障碍，此时細胞业已出现了明显的形态学变化。就照射剂量而言，导致核磷酸化改变的剂量远小于綫粒体。由此可见，机体能量代谢中核磷酸化較綫粒体氧化磷酸化对射綫损伤更为敏感。虽然綫粒体是細胞产生 ATP 的主要部位，但是由于細细胞核的磷酸化作用是“放射敏感”組織中的特有现象，其对放射损伤又如此敏感。因此在研究辐射损伤的能量代谢时，核磷酸化問題是非常值得引起重視的。目前有关細细胞核磷酸化的性质知道

很少，核磷酸化为放射敏感組織特有的效应問題都是极需进一步探討的。

## 二、核酸代謝

近年来电离辐射对核酸代謝，尤其对脱氧核糖核酸(DNA)合成的影响研究得很多，DNA集中在細胞核中，是染色体的主要組成成分；单位染色体中的DNA的质与量都相当恒定。DNA代謝与細胞分裂繁殖有着密切的关系。另一方面电离辐射导致細胞分裂失常，染色体破坏，遗传变异等现象显然也是与細胞核的变化紧密相关。因此进一步掌握电离辐射对核酸代謝影响的规律不仅对闡明輻射损伤的发生机制有着重要意义，并将为探討輻射所导致的細胞活动改变的本质提供重要依据。有关电离辐射对DNA代謝影响研究的进展我們已在另处作了专门的討論<sup>[2]</sup>，这里仅作一扼要的介紹与补充。

### (一) 标記前体的参入作用

在电离辐射对核酸代謝的研究中以标記前体参入作用的工作最多。1942年Hevesy等人<sup>[44]</sup>証明了1,000伦X綫照射使P<sup>32</sup>参入大鼠肿瘤(Jensen肉瘤)細胞DNA的速度明显减慢，以后許多学者利用了各种标記前体，在动物組織(各种正常或肿瘤組織)或离体培养細胞中进行过大量的观察<sup>[52,62,69,116]</sup>。多数工作表明，在致死剂量照射时，DNA合成受到抑制，其抑制程度一般在50%左右；如果动物活存，DNA合成又有不同程度的恢复。电离辐射抑制DNA合成的规律在标記前体参入細胞核的工作中亦得到了証明<sup>[3,75]</sup>。

标記前体参入DNA量的减少，不仅是电离辐射直接作用的影响，而且也可能是射綫敏感的細胞活动改变的結果；例如，辐射引起細胞分裂推迟，分裂停止，以致細胞死亡等现象，这些情况都能导致放射性物质的参入量和放射比活性的减少。然而，射綫损伤后細胞分裂数的改变或細胞发生死亡都需要經過一定时间才出

现。如果在照射后很短时间內(几小时甚至几分钟)进行观察，就可以在很大程度上避免这些細胞数量改变的影响<sup>[62,69,96]</sup>。Ord 和 Stocken<sup>[96]</sup>以 1,000 伦 X 線全身照射大鼠，发现照射后 3 分钟 P<sup>32</sup> 参入胸腺 DNA 的量下降一半，这是一个尽早进行观察的例子。

## (二) 中間代謝物的研究

1942 年 Mitchell<sup>[82]</sup>报告了电离辐射引起組織中 DNA 代謝物改变的事实；他証明了在放射線治疗过的肿瘤細胞浆中，核糖核苷酸含量增加，而細胞核中脱氧核糖核苷酸的合成反而降低。以后 Kanazir 等<sup>[60]</sup>、Bishop 等<sup>[26]</sup>、Mass 等<sup>[79]</sup>都曾观察到类似現象。Ord 和 Stocken<sup>[97]</sup>証明了大鼠經 1,000 伦 X 線照射后 1 小时，胸腺中各种脱氧核糖核苷酸和三磷酸脱氧核糖核苷都有不同程度的积聚；其中尤以尿嘧啶脱氧核苷酸及三磷酸胞嘧啶脱氧核苷增加最多。相反，并未发现胸腺嘧啶脱氧核糖核苷的存在。这些結果表明，电离辐射可能选择性地抑制了胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸的形成，并由于这一简单的干扰使 DNA 合成发生了障碍。酸溶性核苷酸在其他組織中的堆积也有类似的报导<sup>[11,80]</sup>。Cima 等<sup>[31]</sup>甚至在“放射稳定”組織（大鼠肝）中也发现 720 伦全身照射引起核苷酸的增加，在照射后 1 小时內核苷酸含量已超过了正常水平的 60%，照后 24 小时达最高峰。此外，电离辐射导致核蛋白分解的可能性也是存在的<sup>[32,43]</sup>。

Berenbom 等<sup>[22]</sup>証明 400 伦全身照射后 2 天，大鼠脾中DNA 的碱基組成有了很大程度的改变：鸟便嘌呤和腺嘌呤增加，胞嘧啶和胸腺嘧啶减少。照射后机体代謝庫中各种核苷酸相对含量的变化可能是 DNA 碱基比例改变的原因。其次，DNA 合成的抑制时期一旦終了，合成又重新开始，从这些比例异常的前体所合成的产物可能与原来的 DNA 不同；例如，400 伦照射后腹水癌細胞合成 DNA 的速度并无变化，但出现了一时性的分裂停止，当分裂活性恢复后，細胞中出现的变化可能是不正常 DNA 合成的結果<sup>[33]</sup>。

1958 年 Parizek 等<sup>[104]</sup>发现大鼠經輻射損傷后第一天尿样中

胞嘧啶脱氧核糖核苷含量增加。在一定的照射剂量范围内（50～600伦），剂量大小与排出量多寡成正比。不同种类射线的照射（X、 $\gamma$ -射线、快中子、Sr<sup>90</sup>、Po<sup>210</sup> 内照射）对各种实验动物的效应基本上是一致的<sup>[5,6,10]</sup>。尿中这一变化似为辐射损伤的特异性反应，作为射线损伤的指标，可能有一定的意义。在初步探讨这一现象的发生机制时，Parizek 等<sup>[105]</sup>认为照射后机体不能利用脱氧核糖核苷，过量的胞嘧啶脱氧核糖核苷不再在体内继续代谢而随尿排出。

### （三）脱氧核糖核酸酶(DNA 酶)的研究

电离辐射引起“放射敏感”组织（大鼠脾、小鼠胸腺、骨髓）中 DNA 酶 II 活力升高<sup>[45,66~68,89,121]</sup>。这一变化在照射后 6 或 12 小时出现，24 小时后达到最高水平，骨髓中酶活力只在照射后 7 天才上升。大、小鼠肝内 DNA 酶 II 的活力变化不明显<sup>[45,68]</sup>。Kowles-  
ser 等<sup>[64,65]</sup>也指出照射后 18 小时，大鼠血、尿中 DNA 酶 I 及 DNA 酶 II 活力均有显著增加。

关于照射后 DNA 酶活力变化的发生机制，在文献中已有不少报导。Kurnick 等<sup>[67]</sup>认为射线的作用在于除去组织中 DNA 酶的抑制物。然而，许多学者认为<sup>[53,91~94]</sup> DNA 酶存在于细胞颗粒中，不与其底物相接触，射线损伤引起细胞器破坏，从而使结合状态的 DNA 酶获得释放，这可能是酶活力增高的主要原因。

由于 DNA 酶的正常生理作用尚不清楚，因此很难对酶活力增加的意义作出结论。有人认为 DNA 酶除了具有水解作用外，还有其他的功能存在。例如 Goutier 等<sup>[51]</sup>在大鼠再生肝，Brody 等<sup>[28]</sup>在生长组织中，发现 DNA 酶活力显著增加；Chevremont 等<sup>[80]</sup>以纯制的 DNA 酶 II 处理离体纤维细胞，发现细胞线粒体摄取 H<sup>3</sup>-胸腺嘧啶脱氧核苷的能力以及合成 Feulgen 阳性物质的量有所增加，可见 DNA 酶在 DNA 合成中可能也有作用。值得注意的是，一般 DNA 酶在机体经照射后几小时活力才有所增加，而且其他可以破坏细胞的因素，如超声波处理、激素作用等都能使

酶活力升高<sup>[34,92]</sup>，因此这一效应并非是机体损伤的早期变化，也非电离辐射损伤的特异性反应。

#### (四) 細胞分裂周期与 DNA 合成的关系

自 1953 年 Howard 等<sup>[58,108]</sup>在植物細胞中发现 DNA 合成和細胞分裂有着暂时性的关系，以及在細胞分裂周期中 DNA 合成的放射敏感性不同后，已經在許多动物細胞中进行过类似的观察<sup>[23,24,29,38,55,70,102,106,111,124]</sup>。DNA 合成是在細胞分裂中間期进行。分裂发生在 D 期(細胞分裂期)；接着就进入了 G<sub>1</sub> 期(合成前期)，那时 DNA 含量是稳定的；过了 G<sub>1</sub> 期，細胞中 DNA 含量因合成而加倍，这个时期称为 S 期(DNA 合成期)；在 S 期与下一个 D 期中間存在着“平靜”的 G<sub>2</sub> 期(合成后期)。

Lajtha 等<sup>[72,73]</sup>在 C<sup>14</sup>-甲酸盐和 C<sup>14</sup>-腺嘌呤参入人工培养的人骨髓細胞的工作中，証明了小剂量(200~300 伦)的 X 線照射使 40~50% 的 G<sub>1</sub> 細胞在一段時間內不能正常地进入 S 期，經過一段時間延緩后，G<sub>1</sub> 細胞仍能发展成为 S 細胞。一旦进入 S 期后，細胞合成 DNA 的能力与正常一样。但同样剂量的照射对 S 期細胞却毫无影响；只有大得多的照射剂量(750~2,000 伦)才能使 S 細胞中 DNA 合成出现了 50% 的抑制；10,000 伦照射使抑制程度达到 75%<sup>[71]</sup>。

G<sub>1</sub> 細胞中 DNA 合成对放射损伤較为敏感的問題引起許多学者的注意。Bollum 等<sup>[27]</sup>认为 G<sub>1</sub> 期細胞中存在着某些比 DNA 合成本身对射線更为敏感的机制，可能与 DNA 合成所需的酶(如胸腺嘧啶脱氧核苷酸激活酶、聚合酶等)的形成遭到抑制有关。

Holmes 等<sup>[56]</sup>发现大鼠部分肝切除手术后 12 小时的再生肝(G<sub>1</sub> 期)給以較小剂量(150~450 伦)的照射，使 DNA 合成与細胞分裂都推迟了約 10 小时。如以同样剂量照射 20 小时的再生肝(S 期)并不影响 DNA 的合成速度；但对細胞分裂有了抑制。当 DNA 合成一旦开始后，就需要更大剂量才能产生抑制效应，在 S 期内 2,200 伦引起 50% 的合成障碍。Beltz 等<sup>[20]</sup>和 Kelly 等<sup>[61]</sup>

也曾获得了与此相似的结果。

因此，整体和离体细胞的实验资料都进一步确定了电离辐射抑制 DNA 合成的事实，主要表现在照射细胞中 DNA 合成有了推迟。在细胞分裂周期中 DNA 合成对射线最敏感的是在 G<sub>1</sub> 期，当合成已开始(S 期)就需要大得多的剂量才能引起抑制作用。

此外，目前已有许多资料<sup>[39,40]</sup>证明细胞分裂对射线的敏感性超过 DNA 合成，在细胞培养的工作里尤为明显，可能细胞分裂受阻是 DNA 合成抑制的原因。Dickson 等<sup>[39]</sup>以 800 伦照射小鼠纤维母细胞，使细胞分裂停止，C<sup>14</sup>-甲酸盐参入照射细胞 DNA 的速度没有改变，细胞内 DNA 量继续增加。当照射剂量增至 2,300 伦<sup>[40]</sup> C<sup>14</sup>-甲酸盐和 H<sup>3</sup>-胸腺嘧啶核苷的参入 DNA 量受到 50% 的抑制。然而经过 1.5 小时后，虽然细胞分裂不再出现，而标记前体的参入作用的速度却有了恢复，直到细胞中 DNA 量增加至 2 倍为止。但 Nias 等<sup>[37]</sup>发现人工培养小鼠纤维母细胞经 1,000~2,000 伦照射后形成的巨型细胞虽不死亡，但也不再分裂，此时 DNA 合成仍然继续进行，以致 DNA 含量较正常分裂细胞多达 30 倍。这一事实又说明了细胞分裂停止并不使 DNA 合成受阻。

### (五) DNA 合成障碍的发生机制

近年来学者们根据照射剂量与 DNA 合成抑制程度的关系以及细胞分裂周期中所观察到的一些事实，对 DNA 合成障碍的发生机制进行了研究。

按 Kornberg 的工作<sup>[63]</sup>，在 DNA 合成过程中有着两个重要的步骤：(1)聚合的准备阶段，此时 4 种脱氧核糖核苷酸在核苷酸激活酶的作用下经磷酸化后形成三磷酸脱氧核糖核苷。(2)4 种不同碱基的三磷酸脱氧核糖核苷在少量的大分子 DNA 和镁离子的存在情况下经聚合酶的作用形成 DNA 多聚体。这两步骤都可能受到射线损伤，但它们的放射敏感性有所不同。这种看法主要是在 1958 年由 Ord, Stocken 以及 Lajtha 等同时提出来的。

Lajtha 等<sup>[71]</sup> 在人骨髓细胞培养中观察了不同照射剂量对

DNA 合成影响，发现小剂量 X 线照射使  $C^{14}$ -甲酸盐参入量急剧下降 ( $S_1$  部分)，而大剂量照射只引起合成抑制的缓慢加深 ( $S_2$  部分)。 $S_1$  下降 63% 所需的剂量为 500 伦， $S_2$  受到同等程度抑制的剂量为 13,000 伦。Ord 和 Stocken<sup>[98]</sup> 在放射敏感的大鼠胸腺中也获得了类似的结果。

许多学者认为小剂量效应与脱氧核糖核苷酸转变为三磷酸脱氧核糖核苷的过程受到抑制有关；而大剂量的作用似与 DNA 引物破坏相关<sup>[13,69]</sup>。

在受照射组织中 ATP 的利用和脱氧核糖核苷的磷酸化能力俱有下降<sup>[99,110]</sup>。Bettendorf 等<sup>[25]</sup>的观察再次地证实了这一结果；他们以 800 伦全身照射大鼠，发现照射后 30 分钟胸腺中三磷酸胸腺嘧啶脱氧核糖核苷含量减少，仅为正常值的 55%；却未见相应的单核苷酸水平的变动。

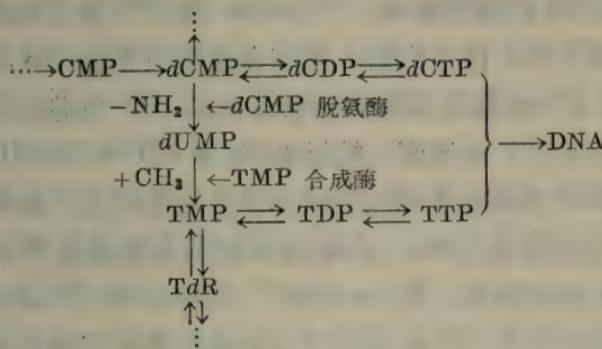
**(1) DNA 合成酶系的障碍** Ord 等<sup>[95]</sup> 报告了 10,000 伦 X 线照射对大鼠胸腺脱氧核糖核苷酸聚合酶活力不产生任何影响。Smellie 等<sup>[118]</sup> 以艾氏腹水癌的无细胞抽提液为 DNA 合成酶系，也指出 500 伦 X 线照射并不引起酶活力的改变。Walwick 等<sup>[120]</sup> 以 X 线体外照射完整的 DNA 合成体系，发现 250~10,000 伦的剂量对激活酶、聚合酶及酵解酶均无抑制影响。

然而，也有学者在另一些实验里得到了不同的结论<sup>[59,118,119]</sup>。例如 Bollum 等<sup>[27]</sup> 曾研究了电离辐射对大鼠再生肝中诱发的核苷酸激活酶的影响。在部分肝脏切除后 6 小时 375 伦 X 线照射使酶活力显著抑制。但手术后 16 小时进行照射并不使酶活力下降，甚至将照射剂量增高到 1,500 伦也不出现任何效应。他们认为在手术后早期（6 小时）小剂量照射使 DNA 合成准备阶段遭到抑制，其关键性问题在于酶系形成的障碍，这也可能是 G<sub>1</sub> 期 DNA 合成受到破坏的一个解释。在手术后 16 小时（相当于 S 期）这些酶系已经形成，因此较大剂量照射也不起作用。至于 S 期中更大剂量的照射所导致的 DNA 合成受阻的原因可能与 DNA 引物受损有关。

关于激活酶受抑制的事实在其他组织中也有过观察。Van Lancker 等<sup>[118]</sup>报告了 350~700 伦 X 线全身照射已足使小鼠胸腺中酶活力下降 75~80%。最近，Main 等<sup>[76]</sup>切除大鼠左侧肾脏，发现 800 伦 X 线一次全身照射后 15 分~7 天，右侧未切除肾脏中 DNA 合成酶系活力丧失大半。以上这些材料多数是在再生或功能代偿活跃组织中观察到的现象，至于这一变化是否是其他组织中所共有的特征，尚有待作进一步的研究。

在再生肝的实验里，聚合酶活力也因照射而下降，但不及核苷酸激活酶对射线敏感。按 Bollum 等的意见<sup>[27]</sup>，核苷酸激活酶活力的大小是再生肝中 DNA 合成的限制因子。

我们知道机体代谢库中胸腺嘧啶核苷酸 (TMP) 除了由内源性或外源性的胸腺嘧啶核苷 (TdR) 经磷酸化途径合成外，尚能由脱氧胞嘧啶核苷酸 (dCMP) 经脱氨反应产生脱氧尿嘧啶核苷酸 (dUMP)，后者再经甲基化作用而形成<sup>[77]</sup>。



Maley 等<sup>[78]</sup>指出，在大鼠再生肝组织中除了核苷酸激活酶外，参与这二反应的脱氧胞嘧啶核苷酸脱氨酶 (dCMP 脱氨酶) 和胸腺嘧啶核苷酸合成酶 (TMP 合成酶) 活力在肝部分切除手术后的 13 和 18 小时开始增加，在 48 和 30 小时分别达到高峰。

在电离辐射抑制 DNA 合成机制的探讨中，dCMP 脱氨酶和 TMP 合成酶活力究竟有无改变的问题最近也引起了一些学者们的注意。Myers 等<sup>[84, 86]</sup>发现在肝组织再生作用的早期 dCMP 脱氨酶活力与 DNA 纯合成的增加几乎同时发生。然而在晚期 DNA

合成已减少而 dCMP 脱氨酶活力仍然很高。600 伦 X 线早期照射抑制了 dCMP 脱氨酶的活力,然而这一效应只在照射后 11~16 小时才出现。在部分肝切除术后的第 2 天,即当再生肝中 dCMP 脱氨酶水平相当恒定的时候进行照射,并不引起酶活力的即刻变化,但在 11~16 小时以后酶活力却下降了 40~50%。他们<sup>[85]</sup>进一步指出,较大剂量(1,500 伦)X 线照射整个肝区或照射手术外露肝叶使脱氨酶和胸腺嘧啶核苷激活酶活力在照射后 1~3 天内均处于同样程度的抑制;照射机体中产生了某些毒性物质可能是酶活力下降的原因。Stevens 等<sup>[115]</sup>也发现 500 伦全身照射大鼠,再生肝中 dCMP 脱氨酶活力的增加推迟了 12 小时。

TMP 合成酶的辐射敏感性较低, Beltz<sup>[19]</sup>以 1,500 伦照射大鼠,发现在照射后再生肝中 TMP 合成酶活力略有下降,约为原水平的 75%;手术后早期照射(6~7 小时后)的效应略大于晚期照射(16~17 小时后)。

(2) DNA 引物的破坏 Wheeler 等<sup>[122]</sup>以 X 线直接照射过的小牛胸腺 DNA 作为引物,观察在正常再生肝 DNA 合成酶系的作用下,  $H^3$ -胸腺嘧啶脱氧核糖核苷或  $H^3$ -胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸参入 DNA 的速度。结果表明,  $5 \times 10^4 \sim 35 \times 10^4$  伦的照射剂量使 DNA 合成有着相应的减少以致完全停止。如果以小牛胸腺细胞核为引物进行照射,即使将照射剂量增高至  $24 \times 10^4$  伦,也未见 DNA 合成障碍。Bollum 等<sup>[27]</sup>、Okada 等<sup>[122]</sup>、Stacey<sup>[114]</sup>均指出,照射纯制的 DNA 溶液并不影响胸腺嘧啶脱氧核糖核苷的参入作用,只有将照射剂量增高至十万伦时标记前体参入 DNA 才有减少。Lehnert 等<sup>[74]</sup>在大鼠再生肝工作中表明,动物在手术后 24 小时经 800 伦 X 线照射,照射后 24 小时提取肝组织 DNA,后者作为 DNA 合成引物的能力与未经照射的再生肝 DNA 相同。由此可见,要引起 DNA 引物遭到破坏的照射剂量已远远超过了一般导致 DNA 代谢紊乱的剂量。有趣的是,Okada<sup>[88]</sup>报告了大鼠经全身一次 800 伦照射后 17 小时,从再生肝细胞核分离出来的 DNA 摄取标记前体的能力大大降低,仅为对照的 1/10 量,并发现

在 200~3,000 伦全身照射剂量范围内抑制程度相似。因此 DNA 引物的破坏可能性也是存在的。事实上, Кузин 等<sup>[8]</sup>早就证明 700 伦全身照射已使大鼠脾中 DNA 迅速开始解聚, 十几小时以后结构粘度已完全丧失。Ord 等<sup>[48,100]</sup>应用 ECTEOLA 离子交换纤维素层析法证明大鼠 X 线全身照射后短时期内, 无论是胸腺 DNA 大分子(1,000 伦, 照射后 15 分), 或是再生肝 DNA 大分子(2,000 伦, 照射后 30 分)在性状上均出现明显改变。可以设想, DNA 引物结构性状的微细改变对 DNA 的继续合成会有影响的。当整体受电离辐射损伤后, 情况更属复杂, 内环境某些因素的变化(如: 激素水平<sup>[49]</sup>, 毒性物质<sup>[86]</sup>对 DNA 合成的影响)也是值得重视的。

如上所述, 有关电离辐射对 DNA 代谢影响的研究已经累积了許多資料, 早期的大量工作集中地揭露了电离辐射引起 DNA 代谢紊乱的各种事实, 如: DNA 合成抑制, 中间代谢物的出现, DNA 酶活力升高等现象。近年来在 DNA 生物化学研究, 剂量与效应关系, 细胞分裂与 DNA 合成的暂时性联系等问题有了进一步阐明的基础上, 学者们对 DNA 合成抑制的发生机制进行了不断的探索: 例如, DNA 合成中各种酶活力的研究, 大分子 DNA 引物损伤可能性的评价, DNA 合成与能量供应的关系等方面, 获得了許多有意义的结果; 这都将为更进一步的研究提供理论依据, 从而促进今后的工作。

## 参考文献

- [1] 张友端, 科学通报, 1961, 6, 15 页。
- [2] 陆如山, 核酸的结构与生物活性研究的进展, 北京市生理科学会系统讲座, 1962。
- [3] Будилова, Е. В., Радиобиология, 2, 32, 1962.
- [4] Голубенцев, Д. А., Мед. Радиол., 6, 851, 1961.
- [5] Жураннов, З. И., Романцев, Е. Ф., Мед. Радиол., 5, 3, 39, 1960.
- [6] Иванов, И. И., Балабуха, В. С., Романцев, Е. Ф., Федорова, Т. А., Обмен веществ при лучевой болезни, Медгиз, 1956, М.

- [ 7 ] Кузин, А. М., *Радиобиология*, **2**, 340, 1962.
- [ 8 ] Кузин, А. М., Стрежевский, Н. Б. *Радиобиология* (Кузин, А. М.), 1957, 50~99, Изд. АНССР, М.
- [ 9 ] Федорова, Т. А., Успенская, М. С., Вешейский, И. С., Беляева, Е. И., *Мед. Радиол.*, **5**, 10, 42, 1960.
- [10] Успенская, М. С., *Радиобиология*, **1**, 663, 1961. **2**, 418, 1962.
- [11] Appleqvist, L. A. and Clemedsen, G. J., Abst. IV Cong. Biochem., 1951, 12~61.
- [12] Ashwell, G. and Hickman, J., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **80**, 407, 1952.
- [13] Bacq, Z. M. and Alexander, P., *Fundamentals of Radiobiology*, 2nd. edition, Pergamon Press, London, 1961.
- [14] Bekkum, D. W. van, Radiobiology Symposium (Bacq, Z. M. and Alexander, P. eds.) 1954, p. 201, London, Butterworths.
- [15] Bekkum, D. W. van, Jongepier, J. S., Nieuwerderk, H. T. M. and Cohen, J. A., *Brit. J. Radiol.*, **27**, 127, 1954.
- [16] Bekkum, D. W. van, *Biochim. Biophys. Acta*, **16**, 437, 1955.
- [17] Bekkum, D. W. van, Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiations and cell metabolism, 1956, p. 77, London, Churchill.
- [18] Bekkum, D. W. van, *Biochim. Biophys. Acta*, **25**, 487, 1957.
- [19] Beltz, R. E., *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **9**, 78, 1962.
- [20] Beltz, R. E., van Lancker, J. and Potter, V. R., *Cancer Res.*, **17**, 688, 1957.
- [21] Benjamin, T. L. and Yost, H. T. Jr., *Rad. Res.*, **12**, 613, 1960.
- [22] Berenbom, M., Peters, E. R., *Rad. Res.* **5**, 515, 1956.
- [23] Berry, R. J., Hell, E. and Lajtha, L. G., *Nature*, **186**, 563, 1960.
- [24] Berry, R. J., Hell, E. and Lajtha, L. G., *Int. J. Rad. Biol.*, **4**, 61, 1961.
- [25] Bettendorf, G., Maass, H., Kirsten, E. and Kunkel, H. A., *Strahlentherapie*, **112**, 74, 1961.
- [26] Bishop, C. W. and Davidson, J. N., *Brit. J. Radiol.*, **30**, 367, 1957.
- [27] Bollum, F. J., Anderegg, J. W., McElya, A. B. and Potter, V. R., *Cancer Res.*, **20**, 138, 1960.
- [28] Brody, S. and Balis, E. M., *Cancer Res.*, **19**, 538, 1959.
- [29] Cattaneo, S. M., Quastler, H. and Sherman, F. H., *Rad. Res.*, **11**, 437, 1959.
- [30] Chevremont, M., Chevremont-Comhaire, S. and Baekeland, E., *Arch. Biol.*, Paris, **70**, 811, 1959.
- [31] Cima, L., Fassina, G., Pozza, F., *Exptl. Cell Res.*, **17**, 1, 1959.

- [32] Cole, L. J. and Ellis, M. E., *Rad. Res.*, **7**, 508, 1957.
- [33] Conger, A. D., *Radiology*, **66**, 63, 1956.
- [34] Cschi, G., Marosvari, I., Harmath, A., *Acta Physiol. Acad. Csi. Hung.*, **14**, 115, 1958.
- [35] Creasey, W. A. and Stocken, L. A., *Biochem. J.*, **69**, 17p, 1958.
- [36] Creasey, W. A. and Stocken, L. A., *Biochem. J.*, **72**, 519, 1959.
- [37] Cronkite, E. P. and Bond, V. P., *Ann. Rev. Physiol.*, **18**, 483, 1956.
- [38] David, F., *Int. J. Rad. Biol.*, **5**, 59, 1962.
- [39] Dickson, M., Paul, J. and Davidson, J. N., *Biochem. J.*, **70**, 18p, 1958.
- [40] Dickson, M. and Paul, J., *Int. J. Rad. Biol.*, **3**, 419, 1961.
- [41] Dubois, K. P. and Patersen, D. F., *Am. J. Physiol.*, **17**, 282, 1954.
- [42] Dubois, K. P. and Patersen, D. F., *Ann. Rev. Nuclear Sci.*, **4**, 351, 1954.
- [43] Ellis, M. E. and Cole, L. J., *Fed. Proc.*, **17**, 366, 1958.
- [44] Euler, H. and Hevesy, G., Kgl. Dansk. Videnskab. Selskab. Biol. Medd., 1942, **17**, (8), 3., 引自 Studies in Radiotherapeutics (Mitchell, J. S.) p. 30, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1960.
- [45] Fellas, V. M., Meschan, I., Day, P. L. and Douglass, C. D., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **87**, 231, 1954.
- [46] Florsheim, W., Doernbach, C. and Morton, M. E., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **81**, 121, 1952.
- [47] Florsheim, W. and Morton, M. E., *Am. J. Physiol.*, **176**, 15, 1954.
- [48] Foster, R. and Ord, M. G., *Nature*, **194**, 883, 1962.
- [49] Gould, D. M., Floyd, K. M., Whitehead, R. W. and Sandens, J. L., *Nature*, **192**, 1309, 1961.
- [50] Goldfeder, A., Progress in Radiobiology (Mitchell, J. S., Holmes, B. E. and Smith, C. L. Eds.), 1956, p. 69, Edinburg, Oliver & Boyd.
- [51] Goutier, R., *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, **67**, 15, 1959.
- [52] Goutier, R., *Progress in Biophysics*, **11**, 54, 1961.
- [53] Goutier-Pirotte, E. and Thounard, A., *Biochem. Biophys. Acta*, **22**, 396, 1956.
- [54] Gray, L. H., *Ann. Rev. Nuclear Sci.*, **6**, 353, 1956.
- [55] Harrington, H., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **95**, 901, 1960.
- [56] Holmes, B. E., Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiations and Cell Metabolism, 1956, p. 225, London, Churchill.
- [57] Holmes, B. E., *Ann. Rev. Nuclear Sci.*, **7**, 89, 1957.
- [58] Howard, A. and Pelc, S. R., *Heredity* (Suppl.), **6**, 261, 1953.
- [59] Jaffe, J. F., Lajtha, L. G., Lascelles, J., Ord, M. D. and Stocken,

- L. A., *Int. J. Rad. Biol.*, **1**, 241, 1959.
- [60] Kanazir, D. and Errera, M., *Biochim. Biophys. Acta*, **14**, 62, 1954.
- [61] Kelly, L. S., Hirsch, J. D., Beach, G. and Palmer, W., *Cancer Res.* **17**, 117, 1957.
- [62] Kelly, L. S., *Progress in Biophysics*, **8**, 144, 1957.
- [63] Kornberg, A., Lehman, I. R., Bessman, M. J. and Simms, E. S., *Biochim. Biophys. Acta*, **21**, 197, 1956.
- [64] Kowlessar, O. D., Altman, K. I. and Hempelmann, L. H., *Arch. Biochem. Biophys.*, **52**, 362, 1954.
- [65] Kowlessar, O. D., Altman, K. I. and Hempelmann, L. H., *Arch. Biochem. Biophys.*, **54**, 355, 1955.
- [66] Kurnick, N. B., *Rad. Res.*, **13**, 263, 1960.
- [67] Kurnick, N. B., Massey, B. M. and Shandeen, G., *Rad. Res.*, **9**, 141, 1958.
- [68] Kurnick, N. B., Massey, B. M. and Shandeen, G., *Rad. Res.*, **11**, 101, 1959.
- [69] Lajtha, L. G., *The Nucleic Acids* (Chargaff, E. and Davidson, J. N. eds.), 1960, vol. 3, p. 527, N. Y. Academic Press.
- [70] Lajtha, L. G., Oliver, R. and Ellis, F., *Radiobiology Symposium*, (Bacq, Z. M. and Alexander, P., eds.), 1955, p. 216, N. Y. Academic Press.
- [71] Lajtha, L. G., Oliver, R., Berry, R. and Noyes, W. D., *Nature*, **182**, 1788, 1958.
- [72] Lajtha, L. G., Oliver, R. and Ellis, F., *Brit. J. Cancer*, **8**, 367, 1954.
- [73] Lajtha, L. G., Oliver, R., Kumatori T. and Ellis, F., *Rad. Res.*, **8**, 1, 1958.
- [74] Lehner, S. M. and Okada, S., *Int. J. Rad. Biol.*, **5**, 323, 1962.
- [75] Longan, R., *Biochim. Biophys. Acta*, **35**, 291, 1959.
- [76] Main, R. K., Cole, L. H. and Walwick, E. R., *Nature*, **193**, 995, 1962.
- [77] Maley, G. F. and Maley, F., *J. Biol. Chem.*, **234**, 2975, 1959.
- [78] Maley, F. And Maley, G. F., *J. Biol. Chem.*, **235**, 2968, 1960.
- [79] Mass, H., Schubert, G., Proc. 2nd. Int. Cong. P. U. A. E., *Geneva*, **22**, 447, UN. New York, 1958.
- [80] Mandel, P. and Chanbon, P., *Biochim. Biophys. Acta*, **31**, 560, 1959.
- [81] Maxwell, E. and Ashwell, C., *Arch. Biochem. Biophys.*, **43**, 389, 1953.
- [82] Mitchell, J. S., *Brit. J. Exptl. Pathol.* **23**, 285, 1942.
- [83] Mole, R. H. and Temple, D. M., *Int. J. Rad. Biol.*, **1**, 28, 1959.
- [84] Myers, D. K., *Can. J. Biochem. Physiol.*, **38**, 1059, 1960.
- [85] Myers, D. K., *Can. J. Biochem. Physiol.*, **40**, 619, 1962.

- [86] Myers, D. K., Hemphill, C. A. and Townsend, C. M., *Can. J. Biochem. Physiol.*, **39**, 1043, 1961.
- [87] Nias, A. H. N. and Paul, J., *Int. J. Rad. Biol.*, **4**, 431, 1961.
- [88] Okada, S., *Nature*, **185**, 193, 1960.
- [89] Okada, S., Gordon, E. R., King, R. and Hempelmann, L. H., *Arch. Biochem. Biophys.*, **70**, 469, 1957.
- [90] Okada, S. and Hempelmann, L. H., *Int. J. Rad. Biol.*, **1**, 305, 1959.
- [91] Okada, S. and Kallce, E., *Exptl. Cell Res.*, **11**, 212, 1958.
- [92] Okada, S. and Kallce, E., *Rad. Res.*, **5**, 589, 1956.
- [93] Okada, S. and Peachey, L. D., *J. Biochem. Biophys. Cytol.*, **3**, 239, 1957.
- [94] Okada, S., Schlegel, B. and Hempelmann, L. H., *Biochim. Biophys. Acta*, **28**, 209, 1958.
- [95] Ord, M. G. and Stocken, L. A., *Brit. J. Radiol.*, **28**, 279, 1955.
- [96] Ord, M. G. and Stocken, L. A., Advances in Radiobiology (G. de Hevesy, A. Forssberg and J. D. Abbatt eds.), 1957, p. 65, Edinburg, Oliver & Boyd.
- [97] Ord, M. G. and Stocken, L. A., *Biochim. Biophys. Acta*, **29**, 201, 1958.
- [98] Ord, M. G. and Stocken, L. A., *Nature*, **182**, 1787, 1958.
- [99] Ord, M. G. and Stocken, L. A., *Biochem. J.*, **68**, 410, 1958.
- [100] Ord, M. G. and Stocken, L. A., *Biochim. Biophys. Acta*, **37**, 352, 1960.
- [101] Osawa, S., Allfrey, V. G. and Mirsky, A. E., *J. Gen. Physiol.*, **40**, 491, 1957.
- [102] Painter, R. B., McAlpine, V. W. R. and Germanis, M., *Rad. Res.*, **14**, 491, 1961.
- [103] Painter, R. B., *Rad. Res.*, **16**, 846, 1962.
- [104] Parizek, J., Arient, M., Dienstbien, Z. and Skada, J., *Nature*, **182**, 721, 1959.
- [105] Parizek, J., Arient, M., Dienstbien, Z. and Skada, J., *Med. Padoz.*, **5**, 3, 31, 1960.
- [106] Paul, J., The Cell Nucleus (Mitchell, J. S. ed.), 1960, p. 147, London, Butterworths.
- [107] Pauly, H. and Rajewsky, B., Progress in Radiobiology, 1956, p. 251, Spring field.
- [108] Pelc, S. R. and Howard, A., *Rad. Res.*, **3**, 135, 1955.
- [109] Potter, R. L. and Bethell, F. H., *Fed. Proc.*, **11**, 270, 1952.
- [110] Potter, R. L. and Buettner-Janusch, V., *Rad. Res.*, **9**, 168, 1958.
- [111] Sherman, F. G. and Quastler, H., *Rad. Res.*, **9**, 182, 1958.

- [112] Silk, M. H., Mancintosh, I. J. C., Cooke, A. D. A., Gilowey, F. and Hawtray, A. O., *Brit. J. Cancer*, **13**, 757, 1959.
- [113] Smellie, R. M. S., McArdle, A. H., Keir, H. M. and Davidson, J. N., *Biochem. J.*, **69**, 37p, 1958.
- [114] Stacey, K. A., *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **5**, 486, 1961.
- [115] Stevens, L. and Stocken, L. A., *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **7**, 315, 1962.
- [116] Stocken, L. A., *Rad. Res.*, Suppl. **1**, 53, 1959.
- [117] Thomson, J. F., Tourtelotte W. W. and Cartlar, M. S., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **80**, 268, 1952.
- [118] van Lancker, J. L., *Biochim. Biophys. Acta*, **33**, 587, 1959.
- [119] van Lancker, J. L., *Biochim. Biophys. Acta*, **45**, 57, 1960.
- [120] Walwick, E. R. and Main, R. K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1962**, **55**, 225, 1962.
- [121] Weymouth, P. P., *Rad. Res.*, **8**, 307, 1958.
- [122] Wheeler, C. M. and Okada, S., *Int. J. Rad. Biol.*, **3**, 23, 1961.
- [123] Whitefield, J. F. and Rixon, R. H., *Exptl. Cell Res.*, **18**, 126, 1959.
- [124] Whitmore, C. F., Stanners, C. P., Till, J. E. and Gulyas, S., *Biochim. Biophys. Acta*, **47**, 66, 1961.
- [125] Yost, H. T. Jr. and Robson, J. H., *Biol. Bull.*, **113**, 198, 1957.
- [126] Zins, G., Raymund, A. B. and Dubios, K. P., U. S. A. F., Rad. Lab. Quart. Progress Report No. 29, Oct, 15, 1958. 引自文献 13, p332.

# 若干血浆蛋白研究的进展

任邦哲 卢义钦

(湖南医学院生化教研组)

远在三千多年前，Hippocrate 时代的希腊人就已观察到血液含有几种不同成分，但血浆蛋白的系統研究却只是近几十年間的事情。本世紀初年开始区分血浆球蛋白为优球蛋白与伪球蛋白两种，前者不溶于水，能为 0.28~0.33 饱和的硫酸銨所沉淀；后者能溶于水，要用 0.34~0.46 饱和的硫酸銨才能沉淀。直到 1937 年，人們总以为只要有清蛋白、优球蛋白、伪球蛋白等就构成血浆的全部蛋白质成分。Tiselius<sup>[1]</sup> 用移动界面电泳法証明血浆球蛋白乃是一系列不同蛋白质分子所构成，以后，Longsworth<sup>[2]</sup> 发现血浆清蛋白也包括許多种蛋白质分子。至此，人們对于血浆蛋白成分的复杂性才比較明确。

Cohn<sup>[3]</sup> 早就指出，中性盐类沉淀蛋白质与盐类和蛋白质本身电荷，以及蛋白分子的体积有关，故蛋白质的沉淀常依其分子体积大小为順序。一种蛋白质能否沉淀常以所加盐类对溶剂的取代程度为轉移，这是盐类减少溶剂对溶质的相互作用的結果。但是用加入中性盐类沉淀蛋白质的方法以分离血浆蛋白质，毕竟是很有限度的。

十余年来 Cohn 和他的同工<sup>[4~7]</sup> 在分离血浆蛋白方面做了很多工作。他們采用乙醇等有机溶剂在低温下提取和分部沉淀血浆蛋白，并适当地应用甘氨酸和一些金属离子，系統地調節 pH、溫度、离子强度、介电常数等因素，以分离各种不同的血浆蛋白质。同时利用低温干燥等优越条件，从人血浆中提制出各种成分，其中有許多是过去不曾知道，或是知道而未曾提純过的。由此使我們能获得相当大量的比較純淨的各种血浆蛋白。关于 Cohn 氏及其改

良方法的介紹，詳見許多文献<sup>[4,8,9]</sup>。

人們由于意識到血浆蛋白成分复杂，乃創建新的方法以分离之，但新的方法又使人們更进一步认识血浆蛋白的复杂性，如此循环，推动了血浆蛋白的研究。

继 Tiselius 氏移动界面电泳法之后又有紙上电泳<sup>[10,11]</sup>、琼脂电泳、淀粉电泳等簡便方法，以及由此发展而来的淀粉胶电泳<sup>[12]</sup>、免疫电泳<sup>[13]</sup>、区带密度梯度电泳(Zone density gradient electrophoresis)<sup>[14]</sup> 等。原来用移动界面电泳或一般紙上电泳等方法，只能将血浆蛋白分为清蛋白、 $\alpha_1$ -、 $\alpha_2$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -球蛋白及纤维蛋白元等 6 个成分；现在运用这些新的方法可以将它分为 20~30 个成分。其中特別是淀粉胶电泳和紙上电泳的应用最广，如能与蛋白质的各种顏色反应、生物鉴定、放射性同位素追踪等方法結合使用則更能精确細致。其他方法如超离析法、层析法、逆流分溶法和电傾泻法等亦皆各有特点。总之，分离蛋白质的方法很多，或适于分析或宜于提純，只要选择恰当，即能运用自如。

近年来由于新的分离方法不断出现，推动了血浆蛋白的研究工作，发现許多新的成分。尽管如此，仍然有許多很微量的蛋白质如血浆中的各种酶、各种蛋白性的激素，都不可能用蛋白质分离方法把它們找出；只能用与酶活性或激素活性有关的特殊方法使它們表现出来。同样血浆中許多与凝血有关的微量因素，只能用特殊凝固方法測定之；許多抗体只能用免疫方法鉴定。因为血浆蛋白是多种蛋白质的非常复杂的混合物，采用任何一种或少数几种方法都不可能显示其所有成分。我們只能依靠多种多样的方法以获得比較全面的知識。现在已知的血浆蛋白成分不下百余种<sup>[15]</sup>，其中只有少数几个与血液凝固有关。

血液是一种循环的組織，它的成分与机体其他組織成分成动态平衡。血液功能众多，它們反映出血液与机体組織的物理化学关系。血液維护着机体水的平衡和酸碱平衡。它提供运输工具，并抵抗外来侵袭。近年来又发现血浆蛋白的结构也有遗传变异。为了解决这些复杂过程的生理生化机制，为了明确这些过程是如何

調節、如何控制的，其中有許多複雜問題值得深思。近來由於各方面知識領域的擴大，才有可能探索血液功能的奧妙。由於涉及的範圍很寬，無法作全面系統的綜述，本文擬僅就以下幾個方面作簡要的介紹。

## 血漿清蛋白

清蛋白在血漿中的含量最高，而且容易製備提純，加以近十年來研究方法的不斷進展，故有關其生物化學的研究已積累了大量資料。可以說在一般蛋白質中，除胰島素外，以清蛋白的工作最為引人入勝。

### 一、化學組成和結構<sup>[16~19]</sup>

血漿清蛋白含有通常的 18 種氨基酸<sup>[20]</sup>。一般每克分子含 SH 基一個，其數目的變動隨蛋白製品的陳化和性質而定。9 種動物血漿清蛋白的化學分析結果<sup>[16, 19, 21~25]</sup>，證明它們都是借內雙硫鍵固定的一條多肽鏈，N 端始於天門冬氨酸。人血漿清蛋白分子的 N 端順序與其他 4 種動物稍許不同，其倒數第 2 個殘基不是蘇氨酸而是丙氨酸。人、狗與兔清蛋白的 C 端為亮氨酸，而有蹄類動物如馬和反刍類則為丙氨酸。又如在某 3 種鳥類清蛋白的 C 端，有 2 種也是丙氨酸，而第 3 種（吐綬鷄）則為纈氨酸，這是在生物學分類的同一綱目中出現的生化差異。

綜合人及牛血漿清蛋白的有關分析資料，獲知該蛋白的單條多肽鏈由大約 17 個雙硫鍵交叉連接；每分子只含有一个游離 SH 基。分光光度測定證明，可能在清蛋白酪氨酸的羥基與分子中的羧基之間有着類似氫鍵的連接，由於加碱滴定無滯後現象，故其分子較呈剛性。據此，Anfinsen 與 Redfield<sup>[24]</sup> 拟訂出了人血漿清蛋白的結構圖解（圖 1）。

由於清蛋白在提純過程中很易聚集，故按超速離心沉降常數 ( $S_{20,w}$ ) 和擴散常數 ( $D_{20,w}$ ) 計算分子量有一定誤差（±2,000），尤

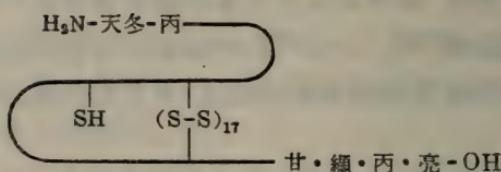


图1 人血浆清蛋白分子的图解

其光散射测定結果的誤差严重。目前各家已漸趋同意：哺乳类(包括人、家兔、大鼠、豚鼠等)及鸟类动物的血浆清蛋白分子量大約在 65,000 的范围<sup>[16, 19, 26]</sup>。关于清蛋白的分子大小和形状，则迄今譖說紛紜。按 Oncley 等<sup>[27]</sup> 报告的粘度值計算，可以有长椭球体和扁椭球体 2 种构型。继后有人提出<sup>[19]</sup>，清蛋白系一种长椭球体，构型較柔韧，长 150Å，直径 38Å，軸比 = 4:1。也有主张清蛋白属于棱晶体模型<sup>[28]</sup>，或近乎棒状、或为球形者<sup>[29]</sup>。

在离子强度为 0.1 的溶液中，清蛋白本身带有血浆所有成分中最高的淨电荷，有人以为这是由于其分子的可滴定基团較多之故(每克分子含 180 个)<sup>[18]</sup>。在生理 pH 和电解质組成的情况下，亦以清蛋白所带淨电荷量最多(带阴电荷共 18)，故电泳时較其他血浆蛋白迁移快。

## 二、物理化学性质<sup>[17, 19, 30]</sup>

长期以来，用电泳研究、柱层析及逆流分溶等方法均証明血浆清蛋白的組成不均一，但一直未能圓滿解說。近年来围绕清蛋白的兩項特性进行了大规模的研究，其非均一性的机制已可在这些互为相关的特性的基础上闡明。

### (一) 离子結合反应

血浆清蛋白对許多离子具有强烈的結合力，尤以对阴离子为最。这种結合是非特异性的，且对所有阴离子一視同仁。清蛋白能与各类色素、金属离子、脂酸、胆紅素、去污剂、磺胺药物以及聚

合物等結合，从而对它們在血中的運轉起了重要作用。

血漿清蛋白的離子結合反應，按被結合離子的帶電性不同，可分為 2 組：

**1. 與陽離子結合** 清蛋白與金屬離子的結合情況，為蛋白分子的負電荷量所控制，且結合部位具有一定特異性，如 Perkins<sup>[31]</sup> 已用同位素稀釋法在人血漿清蛋白與  $\text{Ca}^{++}$  及  $\text{Zn}^{++}$  的結合反應中証實。

**2. 與陰離子結合** 又根據離子的大小分為 3 種類型：

(1) 與小陰離子 大多為無機和有機鹽類，也包括有機物的酶促產物在內<sup>[32]</sup>；

(2) 與中等度陰離子(染料及其他)；

(3) 與去污劑类型的大陰離子(表面活性離子) 近來對此类型的結合反應研究得較多也較透徹。與去污劑的結合，一般應發生在清蛋白分子等電點的酸側。Putnam 與 Neurath<sup>[33]</sup> 用移動界面電泳法凭借移速的觀察，研究了晶狀馬血漿清蛋白與十二烷基磺酸鈉(SDS)的結合。在  $0^{\circ}\text{C}$  它們具有 2 種并列出現的組成較恒定的复合物，其每分子各含有去污劑離子 55 及 110 個，如令此二复合物為  $\text{AD}_n$  和  $\text{AD}_{2n}$ ，則  $n=55$ 。形成  $\text{AD}_n$  時其內稟粘度無變化；而  $\text{AD}_{2n}$  的內稟粘度有顯著增加，表示在此階段分子的折疊已打開。而 Foster 等<sup>[34,35]</sup> 認為，添加低濃度的去污劑，其在清蛋白分子上的結合點只限於 10 或 12 处；這些結合點一旦被飽和，清蛋白的結構即有改變而使共約 36 处的新結合點暴露出來，以生成大致與  $\text{AD}_n$  相同的复合物。

在酸性 pH，牛血漿清蛋白亦可與陽離子去污劑——十二烷基二甲基苄氯化銨結合(兩者帶相同電荷)。

Goodman<sup>[36]</sup> 用分溶技術研究了長鏈脂酸陰離子——月桂酸、豆蔻酸、軟脂酸、硬脂酸、油酸、十八碳二烯酸等的鹽類與脫脂的人血漿清蛋白的結合。由此証明，在加熱、尿素和胍鹽所致變性作用中，脂酸陰離子對清蛋白液的明顯穩定效果，實與前者的強大結合力有關。

血浆清蛋白也可与高分子量的聚阴离子 (polyanions) 结合，如多磷酸盐(核酸)、多硫酸盐(肝素)、葡萄糖胺衍生物及多羧酸盐等。与葡萄糖胺衍生物的结合又有不同的情况。在其等电点或等电点的酸侧，清蛋白分子可与带负电荷的葡萄糖胺硫酸酯结合<sup>[37]</sup>，而在其等电点的碱侧则可与带正电荷的碱性衍生物——葡萄糖胺的二乙基氨基乙基 (DEAE) 酚相结合<sup>[37,38]</sup>，在 pH=4 时，葡萄糖胺的 DEAE 酚只能抑制清蛋白的同分异构反应，而不与后者形成复合物。

## (二) 酸性 pH 值时的行为

在其等电点以下的 pH 值，血浆清蛋白分子的结构变化大多可逆。

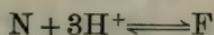
**1. 分子膨胀** 牛血浆清蛋白的羧基滴定曲线在酸性 pH 区转为陡曲，Tanford 等<sup>[39]</sup> 将此现象解释为蛋白分子的膨胀。Yang 与 Foster<sup>[40]</sup> 发现，在 pH 4 以下牛血浆清蛋白溶液的旋光度和内禀粘度均呈明显增加，且随离子强度的增加而降低。光散射实验及流动双折射测定又证明，此时蛋白分子的聚集作用极微或不存在，因此肯定清蛋白分子发生了静电性膨胀。Tanford 与 Buzzell<sup>[41]</sup> 曾研究离子强度对清蛋白溶液内禀粘度的影响，他们指出在酸性 pH 时清蛋白首先由于失去分子内稳定性而产生一“可膨胀”构型的中间物，然后整个分子膨胀。一般认为，在 pH 4 以下，人、牛、马、大鼠及家兔血浆清蛋白的  $S_{20,w}$  值骤趋下降，待增加离子强度后其下降又显著被抑，此实非蛋白分子的离解，而是其膨胀的另一种表现<sup>[26,42]</sup>。只有豚鼠血浆清蛋白的  $S_{20,w}$  值与 pH 的依存关系不同，在 pH 5 以下  $S_{20,w}$  值即出现骤降，继而在约 pH 3.6~3.2 的范围内由于生成了二聚体，其  $S_{20,w}$  值又有相当大程度的回升<sup>[26]</sup>。

**2. 电泳反常行为** 早在 1939 年，Luetscher 即已发现，高度提纯的血浆清蛋白制品于 pH 4 附近电泳时，仍会表现出不均一性。继后关于低 pH 条件下清蛋白的电泳行为陆续有不少报告，

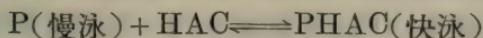
所用研究方法均为移动界面电泳法。综合起来，这些工作代表3个方面的探索，兹分述如下：

(1) 研究 pH 的影响——N-F 反应 1957年間，Aoki 与 Foster<sup>[43,44]</sup> 在低离子强度和酸性 pH 时曾詳細研究过 0.2% 牛血浆清蛋白液的电泳图譜，証实在 pH 从 4.5 降达 3.5 的过程中出现了两个界面，其各自的面积不甚恒定，但有規則地随 pH 值而变化，它們將出現于 pH>4.5 范圍內的正常构型称为 N 型，而对速泳于 N 型前的清蛋白新构型命名为 F 型。

在此同分异构反应中，两型清蛋白的移速之差大致相当于 3 个电荷单位，系一緩慢吸热过程，并可达成动态平衡。两者的相互关系可列成下式：

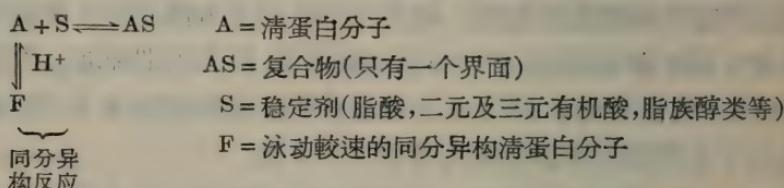


(2) 研究清蛋白与有机酸的結合反应 1960 年 Saifer 等<sup>[45]</sup> 从血清第 V 部分(Cohn)制得人清蛋白純品，用它在 pH 8.6、μ 0.10 的巴比妥緩冲溶液中电泳时只发现 1 个界面。待将緩冲液改为 pH 4.0、μ 0.10 的醋酸盐溶液，即显示 2 个上行界面。而在 pH 4.2、μ 0.04 的醋酸盐-NaCl (90%) 緩冲液中，如不計靜止的 δ 峰，则总共出现 3 个上行界面，而且在上行及下行界面之間非常不对称。当采用 0.1μ 醋酸盐緩冲液以移除第 3 界面后，添加直鏈脂酸(如辛酸、油酸等)或高級醇(十二醇)入乙醚处理过的清蛋白液中，可促使第 2 界面重现，泳动較慢的第 2 界面(設为 P 型)下面积的增加和泳动較速的第 1 界面(設为 P<sub>1</sub> 型)下面积的减少，与每克分子清蛋白所結合的脂类(油酸盐)克分子数成正比。因此 Saifer 等认为，第 1、第 2 上行界面为脂类等有机物的結合所引起的同分异构反应，即存在着 P<sub>1</sub>↔P 的平衡关系，而清蛋白的 N-F 反应其实就是 P<sub>1</sub>↔P 平衡，因为 Aoki 与 Foster<sup>[43,44]</sup> 所用的清蛋白制品并未經再度提純。至于第 3 上行界面，他們认为是清蛋白分子与未离解緩冲酸的結合所致，此較特异的相互作用如下：



与此同时，Schmid 与 Polis<sup>[46]</sup> 也研究了某些一、二元有机

酸特別是直鏈脂酸对人血浆清蛋白电泳行为的影响，并进一步肯定 Saifer 等的結果。他們根据实验資料推測，包括脂酸在内的某些有机酸可按下列方程式对清蛋白的同分异构反应起穩定作用，使 2 个上行界面变为单个界面：



(3) 研究对流循环的干扰 在低 pH 电泳，除 pH 值、脂类物质結合与离子强度的变动外，Cann<sup>[47]</sup> 报导 Tiselius 氏电泳池中的对流干扰对清蛋白的电泳图譜亦具有重要影响，对流干扰为蛋白分子与緩冲酸相互作用所引起，致使电泳界面的梯度在两峰之間降为零，改变了原有图譜。

**3. 关于清蛋白的空间模拟结构** 图 2 是 Foster 根据其研究結果設計的一个含有亚基的清蛋白模拟结构。它含有 4 个带两性电荷的单层(即亚基)，各单层又由含有一些螺旋区及“不定形”区的各型二级折叠所构成。而非极性侧鏈轉入分子内部或疏水面以及极性和电离基团进入水相的趋势，则是控制此折叠的主要力量。在 4 个亚基之間，只有 1 个(水化的)亲水界面和 2 个未水化的疏水界面。N 型的电离部位系分布于模型分子的外围，于是这一层上的阴电荷基团即可与邻层的阳电荷基团配对，反之亦然。清蛋白的疏水面在 N 型被掩蔽，而在 F 型则暴露出来。由此也自然容易理解 F 型在水中的溶解度为何极低，以及在有机溶剂中何以溶解度增加。通过模型外围的 10~12 个小孔，清蛋白的 N-F 型平衡与去污剂离子的結合发生关系。在同分异构反应中，这些强結合点(即小孔)被破坏，大量疏水面(弱結合点)相继暴露出来。暴露过程一般可分两阶段，每次暴露一个界面，所以只要条件适当，就可以生成  $AD_n$  与  $AD_{2n}$  两种复合物。在离子强度 = 0.1 时，清蛋白 N-F 反应中还有一种中間电泳构型，称为 F' 型<sup>[48]</sup>。

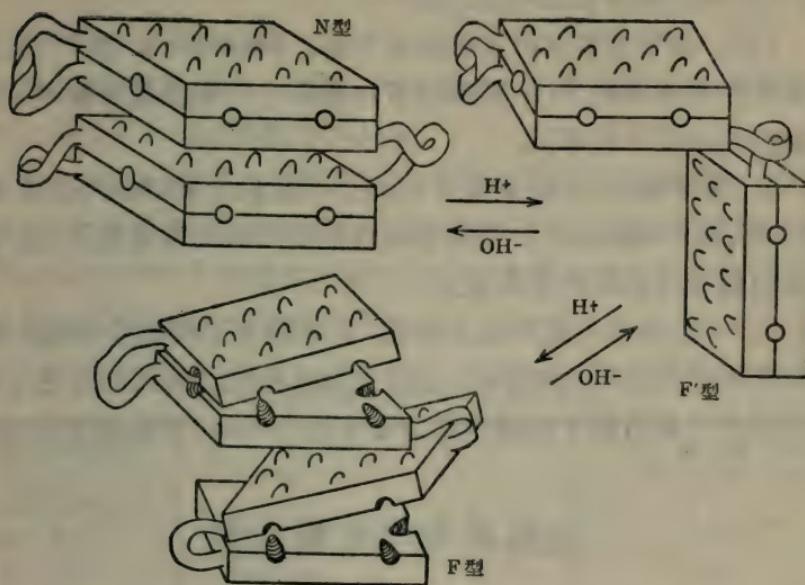


图2 清蛋白分子的高度理想模型示意图

据此可解释 N-F 型互变及其与滴定反常行为的关系,与去污剂的结合,和在低 pH 值时其溶解度特性的改变等等

### 三、清蛋白的理化性质与其生理功能的联系

关于清蛋白的生理功能均可利用上述资料試加探討:

(一) 与一系列低分子量的物质結合,起暫時儲运作用,或通过結合以降低其血中浓度从而起一定緩冲作用。例如 Vallence-Owen 等<sup>[49]</sup>发现,正常人或未控制的糖尿病人的血浆清蛋白含有一种胰島素拮抗物,其作用与脑垂体功能有关,在 pH 5.5 耐受高热,可自由透析,为一低分子量物质。

(二) 将机体需要和不需要的离子运输到必需地点或排泄器官。例如特別是那些具有相当疏水性的物质,可能被夹带于清蛋白分子的疏水界面之間,待进入有利于F型形成的离子环境中即行释出,清蛋白的迹量脂酸杂质之非常不易除淨,其原因乃在此。而有机汞制剂进入血中后,即与清蛋白的 SH 基結合,生成汞二聚

体，几乎全部由清蛋白担任运输<sup>[19]</sup>。

(三) 调节血浆容积及组织液平衡。Scatchard 等<sup>[50]</sup> 赞明，血浆胶性渗透压的 75% 有赖清蛋白维持之。它在这方面的高度效能应归功于下列原因：

1. 分子较小，一般血浆蛋白的分子量约为 90,000，而清蛋白只有 65,000~69,000，恰高于从肾排泄所需的临界阈值，这对将该蛋白保留于机体内甚具意义。

2. 一方面由于其等电点较低，且对阴离子的结合力强，故清蛋白带有较高的平均净电荷。在清蛋白承担调节的胶性渗透压中，有三分之一系借助于伴随净电荷而来的Donnan 平衡效应实现的。

## 血浆蛋白的运输功能

血浆是从消化道吸收的营养物与各组织的代谢物会聚交换之处，为了保证机体内环境的相对安定，血浆蛋白担起了巨大的运输任务。营养物和代谢物运输的主要环节有赖于清蛋白；然而血中还有一些特殊成分的运输需要血浆蛋白的其余部分或其他蛋白来参与协助。

### 一、血浆脂蛋白<sup>[51~54]</sup>

血浆脂蛋白是一种结合蛋白，其脂类部分共有 5 类，即游离胆固醇、甘油酯、胆固醇酯、磷脂以及少量游离脂肪酸。一般也包括清蛋白-脂酸复合物及乳糜微粒。

自从 1929 年法国 Machboeuf 首先用马血浆提制脂蛋白以来，近三十年陆续采用了各种方法提取，如自由电泳、盐析配合超离心、低温乙醇分部沉淀和超离心浮选法等不一而足。其中以 Gofman 等<sup>[55]</sup> 改进的超离心浮选法分离得最为细致。借此可将血浆脂蛋白分为两大组：

1. 低密度脂蛋白(又称  $\beta$ -脂蛋白) 共分 5 组—— $S_f$  0~12,  $S_f$  12~20,  $S_f$  20~100,  $S_f$  100~400 及  $S_f$  400~10<sup>5</sup>。又因  $S_f$

12~20 及  $S_f$  100~400 的浓度较小，乃并为 3 组： $S_f$  0~20,  $S_f$  20~400 和  $S_f$  400~10<sup>5</sup>。

**2. 高密度脂蛋白**（又称  $\alpha$ -脂蛋白）共二组——HDL<sub>2</sub> 和 HDL<sub>3</sub>,  $S_f$  0~2 有时又称为 HDL<sub>1</sub>。

从超离心分析得知，HDL<sub>2</sub> 和 HDL<sub>3</sub> 的分子量分别在  $1 \times 10^6$  至  $4 \times 10^5$  范围内，低密度脂蛋白组则从 1 百万以上达几万万。最近 Hayes 等<sup>[56,57]</sup> 用锇酸固定后投影的方法在电子显微镜下观测了各组血浆脂蛋白，其结果见表 1。

表 1 血浆脂蛋白的电子显微镜观察

浮选密度分组	分子形状	分子大小	有否亚基
低密度脂蛋白谱 $S_f$ 400 及以上……	近球形	800~10,000 Å	否
$S_f$ 20~400 ……	扁平球形	——	否
$S_f$ 0~20 ……	扁椭球体	360×150 Å	可能含有 2~3 个不对称的亚基，或有二聚体形成，分子量 = $6.9 \times 10^6$
高密度脂蛋白谱 (HDL <sub>2</sub> + HDL <sub>3</sub> )	长椭球体	300×50 Å	否

血浆脂蛋白的化学组成在各组内呈现一定规律。随着脂蛋白组的密度递增，其甘油三酯的含量逐渐减少，而胆固醇酯和磷脂的含量则有逐渐增加的趋势。1960 年 Nelson 等<sup>[58]</sup> 及 Green<sup>[59]</sup> 分析了人血浆脂蛋白各组的磷脂和脂酸，指出其磷脂有卵磷脂、神经磷脂、磷脂酰氨基乙醇胺和磷脂酰丝氨酸。脂蛋白的磷脂含有全部 C<sub>8</sub>~C<sub>18</sub> 以上的饱和及未饱和的偶数碳原子脂酸，其胆固醇和甘油三酯中的烯脂酸含量也相当高。

1956 年 Avigan 等曾分析电泳提纯的血浆  $\alpha_1$ - 及  $\beta_1$ - 脂蛋白，确定在两者的 N 端分别有 1 克分子的单个天门冬氨酸和谷氨酸。根据化学组成的系统分析，Anfinsen 与 Redfield<sup>[60]</sup> 认为  $\beta_1$ - 脂蛋白分子的蛋白质含量约 25%，由计算得知能被蛋白鞘蔽盖的脂类尚不到脂蛋白分子的一半。又鉴于  $\beta_1$ - 脂蛋白的游离胆固醇和磷脂能与机体内相应的分子迅速建立平衡，而其胆固醇酯与外界

的交换则远为缓慢，因此他们推測在蛋白肽鏈的表面有“小孔”存在，是游离胆固醇和磷脂交换的通道。一般公认<sup>[58,61]</sup>，在血浆脂蛋白中含有两类化学键：(1)脂类与脂类间的结合键，系借助于离子力、van der Waals 力和氢键形成，此连接甚弱，乙醚抽提即可断裂；(2)脂类和蛋白质间的较强吸附连接，需用乙醇煮沸始分离。于是他们提出， $\beta_1$ -脂蛋白所含的胆固醇酯必位于其分子的中央，埋藏在以 van der Waals 键连接的中性脂肪基质内。而  $\alpha_1$ -脂蛋白的密度较  $\beta_1$ -脂蛋白高些，且不含中性脂肪，故其分子结构有所不同。根据上述論証，他们建議两类血浆脂蛋白有如图 3 所示的模拟结构。

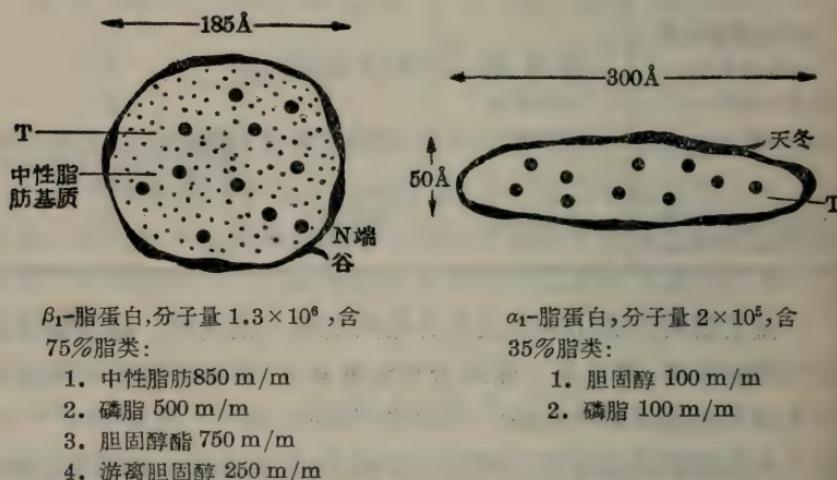


图 3 血浆  $\alpha_1$ -及  $\beta_1$ -脂蛋白的模拟结构图解

T = 磷脂 + 胆固醇酯 + 游离胆固醇, m/m = 克分子 / 每克分子蛋白  
(据 Anfinsen 与 Redfield 图改繪)<sup>[60]</sup>

近五年来由于研究方法的不断改进，关于血浆脂蛋白结构的探索又得以深入一步。1957 年 Shore<sup>[62]</sup> 曾按所得結果拟訂了各組脂蛋白的一級結構(詳表 2)。又从分子降解，免疫化学和同位素追踪等研究資料分析，在低密度脂蛋白(即  $\beta$ -脂蛋白)，有相当数量的蛋白部分暴露于整个分子外面，而只有較少量脂类被蛋白质复盖，环繞于脂蛋白分子外的亞結構蛋白单位(分子量等于 5~

表2 人血浆脂蛋白的一級結構

超离心浮选法分組	多肽鏈			蛋白分子量
	数目	图解	分子量	
S <sub>f</sub> 20~60 .....	1条	H <sub>2</sub> N-絲..... 丙-COOH	120,000	5~20×10 <sup>6</sup> ②
S <sub>f</sub> 6~8(7.9) .....	2条	H <sub>2</sub> N-谷..... 絲-COOH (两条结构大致相同)	每条 380,000	3,200,000③
HDL <sub>2</sub> (水化密度 = 1.093 克/毫升) .....	2条 ①	H <sub>2</sub> N-天冬..... 苏-COOH	每条 95,000	435,000±20,000④
HDL <sub>3</sub> (水化密度 = 1.149 克/毫升) .....	1条	同 HDL <sub>2</sub>	95,000	195,000±10,000④

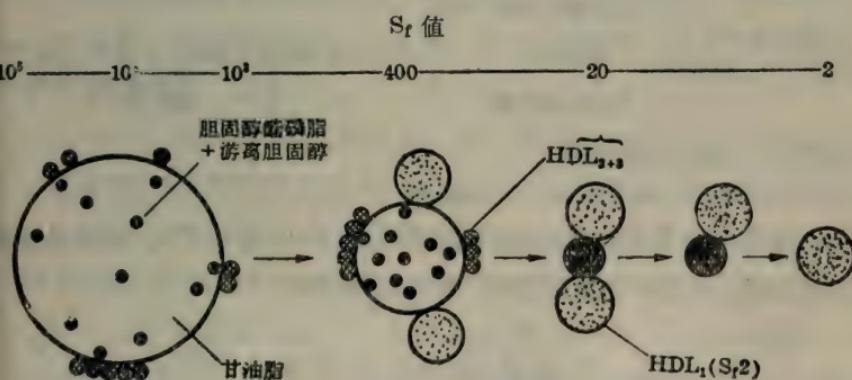
① 从 HDL<sub>2</sub> 和 HDL<sub>3</sub> 蛋白部分的氨基酸定量分析, 未发现显著差别, 故推測 HDL<sub>2</sub> 为 2 条 HDL<sub>3</sub> 多肽鏈所組成

② Stokes 球形最小分子量

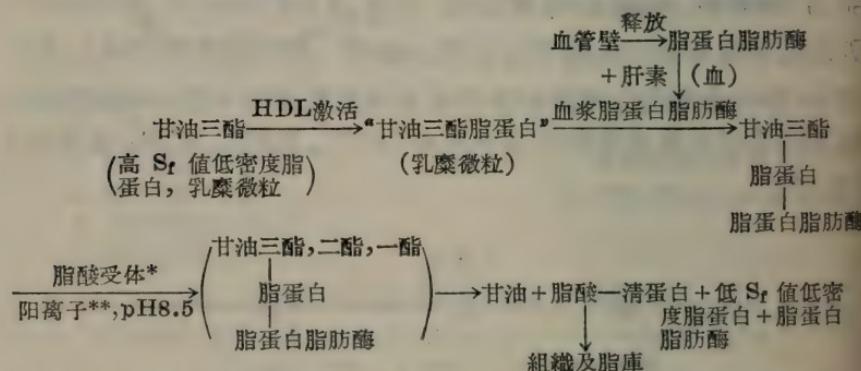
③ 光散射法測定

④ 沉降平衡法測定

30 万)的数目, 将随 S<sub>f</sub> 值而递增。于是, Lindgren 与 Nichols<sup>[54]</sup> 設想低密度脂蛋白的模型由两部分組成: 脂类混合鏈的核心位于內层; 其部分表面为亞結構蛋白或脂蛋白单位所环繞, 而这些亞結構蛋白分子可能就是脂蛋白小单位(HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub>, HDL<sub>3</sub>或其他)(詳圖 4)。

图4 低密度脂蛋白(即  $\beta$ -脂蛋白)的模拟结构

脂蛋白参与血中脂肪代谢。Hahn<sup>[63]</sup> 首先发现肝素能澄清脂血症血浆的混浊。继后在人身上及人血浆的体外实验中亦得到相同结果<sup>[64,65]</sup>，均肯定肝素能消除乳糜微粒，同时可促使高 S<sub>r</sub> 值脂蛋白单方向转变成较低 S<sub>r</sub> 值组。最近 Binet 等<sup>[66]</sup> 报导，皮下注射类肝素制品——硫酸聚甘露糖醛酸酯只能改变血浆脂蛋白的分布图谱，而不能降低过高的血脂含量，但注射肝素则有双重作用。1955 年 Korn<sup>[67]</sup> 从人和家兔心脏与脂肪组织中提出脂蛋白脂肪酶，它只能水解与脂蛋白结合的甘油三酯，且水解三个酯键的速度几乎相等<sup>[68]</sup>。当以该酶在体外水解乳糜微粒时，证明此过程由 HDL 激活，而释出的游离脂酸则被血浆清蛋白运往组织。至于肝素又是脂蛋白脂肪酶分子的必需成分，在该酶与脂蛋白结合形成中间产物时起桥梁作用<sup>[69]</sup>，故肝素的上述澄清影响实际上系通过该酶而发挥。血浆中脂蛋白脂肪酶主要来自血管壁，它们可能不含肝素或所含极微，因此需要肝素激活。兹将脂蛋白参与血中脂肪运转的过程图示如下<sup>[69]</sup>，此即饱食后血中乳糜微粒移去的途径之一：



〔附注〕：\* 主要为血浆清蛋白

\*\* Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, Ba<sup>++</sup>, 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

此外，血浆脂蛋白还与机体内免疫作用有关<sup>[61]</sup>，它又是脂溶性维生素、胡蘿卜素和固醇类激素的携带者<sup>[70,71]</sup>。

## 二、与金属结合的血浆蛋白<sup>[72,73]</sup>

血中大量存在的金属离子如 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 等主要由浆蛋白担任

运输，且其结合亦弱，故不拟再涉及之。下面只提出几个特殊离子的运输。

### (一) 铁的运输

早在 1920 年已知铁在血浆中主要以两种形式存在：1. 与蛋白结合的“酸溶性”铁；2. 血浆血红蛋白铁。随着分析方法的进步，现已肯定血中铁与两种血浆蛋白结合：(1) 大部分与转铁蛋白(transferrin 或 siderophilin，简写为  $T_f$ )结合；(2) 少量铁含于血浆血红蛋白中，而后者又与结合珠蛋白(haptoglobin，简写为 Hp)紧密结合着，故实际上可当作 Hp-Fe。

**1. 转铁蛋白** 1946 年 Schade 与 Caroline<sup>[74]</sup> 首先观察到人血浆的 Cohn 第 IV-3,4 部分能抑制嗜铁细菌（如志贺氏痢疾杆菌）的生长，从而发现其中含有一种能与铁螯合而显示暗红色的蛋白质。继后，Surgenor 等<sup>[75]</sup> 与 Koechlin<sup>[76]</sup> 从血浆的 Cohn 第 IV-4 部分将该蛋白结晶析出。它约占血浆蛋白总量的 3%，电泳时属于  $\beta_1$ -球蛋白区带。Boettcher 与其同工<sup>[77]</sup> 和 Patras 等<sup>[78]</sup> 改用较简便的 rivanol(2-乙羟基-6,9,二氨基夹氮蒽乳酸盐)沉淀法亦从人和牛血浆中制得含量达 90% 的纯品。 $T_f$  并非组成均一的物质。Smithies<sup>[79]</sup> 用双向淀粉胶电泳鉴别出带不同的非显性常染色体等位基因 ( $\beta B$ ,  $\beta C$  和  $\beta D$ ) 的三型  $T_f$ ，其遗传特性虽不一样，而尚未报告有化学差异，只在电泳移速上不同。Buettner-Janusch<sup>[80]</sup> 也报导猩猩的血浆  $T_f$  有 8 种类型。血浆  $T_f$  的理化性质与脑脊液  $T_f$  不同<sup>[81]</sup>。

关于  $T_f$  的化学组成和性质，以 Schultze<sup>[82]</sup> 的资料最为详尽。该蛋白的溶解性状很象清蛋白，其分子量等于 88,000，含氮量为 14.7%，N 端只有一个缬氨酸，等电点  $pH=5.4$ ，含己糖 2.4%，乙酰氨基己糖 2.0%，唾液酸(sialic acid) 1.4%，相当于每分子  $T_f$  约含 4 个唾液酸残基<sup>[83]</sup>，后者通过糖苷键与  $T_f$  分子相连。霍乱弧菌的培养滤液中含有一种神经酰胺酶(neuraminidase)，能水解此苷键。若将该酶制剂与正常人血清或  $T_f$  纯品保温<sup>[82,83]</sup>，两

者的电泳移速均告降低。随着  $T_f$  分子上的 4 个唾液酸的逐个移去，其移速呈梯度递减 (stepwise decrease)，而出现四个新区带，连同原  $T_f$  的一个区带，共計 5 个。由  $\text{Fe}^{59}$  放射摄影得知，各区带的相对强度随酶浓度而变动。只要一个唾液酸的糖苷键被水解，反应会进行到 4 个唾液酸完全被移除为止。Poulik<sup>[84]</sup> 用白喉毒素处理  $T_f$ ，亦得到相同結果。每分子  $T_f$  能与 2 个高鉄原子可逆結合 (1 毫克  $T_f$  約结合 1.25 微克的高鉄)，以在 pH 6.5 时的結合度和呈色最强，于波长 465 毫微米处出现最大吸光率。 $T_f$  与  $\text{Cu}^{++}$  或  $\text{Zn}^{++}$  的結合較松，在  $\text{Co}, \text{Ni}, \text{Zn}, \text{Mn}$  等元素存在时亦不妨碍鉄的結合。1 毫克  $T_f$  約与 1.4 微克銅結合，此反应以 pH 8.5 时最强。鉄与銅可能在  $T_f$  分子的相同基团上結合，而在中性 pH 以鉄的結合較強。鉄在与  $T_f$  形成的复合物中以离子键的連接为主，每 Fe 原子需要一个  $\text{HCO}_3^-$  以完成复合。当 pH 值向酸侧降低时，尤其如有与 Fe 更强結合的离子 (EDTA 等) 存在， $\text{Fe}-T_f$  复合物即离解。在 pH 3.0 以下即令无 EDTA，此复合物亦自行离解。在中性或微酸性溶液中，强还原剂会使复合物褪色。

血中  $T_f$  含量的表示方法一般有两种，而以第 2 种較为可靠：(1)鉄結合总量 (TIBC)：即測定血浆游离鉄和  $T_f$  結合鉄量之和，正常值在 250~450 微克%，以絕對值計算，相当于每 100 毫升血浆含  $T_f$  0.20~0.32 克；(2)潜在鉄結合量 (die latente Eisenbindungs Kapazität)<sup>[85]</sup>：可加过量的  $\text{Fe}^{++}$  使血浆所含  $T_f$  饱和，再用饱和  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  及 20% 三氯醋酸液将生成的  $\text{Fe}^{++}-T_f$  复合物沉淀，取滤液測定鉄含量。所加  $\text{Fe}^{++}$  量与后者之差，即为潜在鉄結合量。 $T_f$  所携的鉄量約占結合总量的 1/3~2/3，正常一般为 50~350 微克%。血浆  $T_f$  含量在鉄缺乏症和妊娠末期增高；而在急、慢性活动病灶則降低。

在鉄的中間代謝过程，主要緩冲体系是去鉄鉄蛋白-鉄蛋白与含鉄血黃素系統，但两者的反应速度远較  $T_f$  迟缓。 $T_f$  通过与鉄的复合，能防止机体中鉄的迅速释放及从尿中損失，維持受鉄抑制的活性物质的活性。并借助于  $\text{Fe}-T_f$  复合作用的可逆，有效地

調節鐵的運轉。

$T_f$  可能在肝中合成，此已由 Dancis 等<sup>[86]</sup> 和 Rausen 等<sup>[87]</sup> 在人胚胎肝組織和胎儿研究中証实。关于  $T_f$  的代謝，Katz<sup>[88]</sup> 由追踪带有  $I^{131}$  和  $Fe^{59}$  的  $T_f$  得知，其交換总量为每公斤体重 0.2~0.3 克，其中有 56~62% 是血管外鐵。 $I^{131}-T_f$  的代謝半衰期 = 6.7~8.4 天。当衰老的紅血球在內皮网状系統遭受破坏后，釋出的鐵在 30 分钟后即形成  $Fe-T_f$  复合物而重新出现血中。

Faber 与 Jordal<sup>[89]</sup> 报告，注入  $Fe^{59}$  后在淀粉胶电泳时，发现  $\beta_1$ -球蛋白前区(即  $A + \alpha_1 + \alpha_2$ -球)于 1 小时內常有一定量的放射性分布。因此指出，血清中可能存在有一种与  $T_f$  不同的携鐵蛋白質，能与鐵可逆結合，它代表  $T_f$  与紅血球母細胞之間的一个中間阶段。

**2. 結合珠蛋白** 在已分出紅血球的血浆中尚含有 1~3 毫克% 的血紅蛋白，連接于 Hp 分子上，此結合鐵約為 3~10 微克%。Hp 系 Jayle 及其同工于 1939 年发现<sup>[90]</sup>，继后 Smithies 等 (1955)<sup>[12b]</sup> 用淀粉胶电泳将它分离为 3 种基因型(1-1、2-1 及 2-2)。Laurell<sup>[91]</sup> 曾采用高 Hp 血症患者的腹水作为制备来源。Steinbuch 等<sup>[92]</sup> 用血浆的 Cohn 第 IV 部分加 rivanol 沉淀再在 DEAE 纤維素柱上层析，将 Hp 进一步提純。

Hp 的分子量为 85,000，等电点在 pH 4.1，含有 6.2% 己糖，6.1% 乙酰氨基己糖和唾液酸 5.5%<sup>[82]</sup>。每克分子 Hp 与 1 克分子的血紅蛋白或珠蛋白結合。在結合过程中靜电力很重要，Van der Waals 鍵也可能有关系，Hp 与 Hb 这两个分子或許通过两侧带正負电荷的互补表面而牢固結合<sup>[93]</sup>。亞鐵血紅素部分，Hb 的 SH 基以及 Hp 的唾液酸与此連接似乎无关。因为 Rafelson 与其同工<sup>[94]</sup> 曾报告，用神經酰胺酶从 Hp II 或 Hb-Hp II 复合物上移除的 70% 唾液酸分子以及剩留的 30% 唾液酸，均不参加 Hb-Hp 的复合。紙上电泳时<sup>[95]</sup>，Hb-Hp 复合物同  $\alpha_2$ -球蛋白伴行(家兔和大鼠)或同清蛋白和  $\alpha_3$ -球蛋白伴行(豚鼠)。以神經酰胺酶处理后，Hp 的电泳移速漸次减慢，与  $T_f$  的移速呈梯度下降者不同<sup>[89]</sup>，此可能与 Hp 的高唾液酸含量(至少每分子含

15个唾液酸残基)有关。Hb-Hp复合物能同样与氧结合,复合的Hb与介质中游离的Hb之间可进行缓慢的交换。Hp能激活Hb的过氧化物酶活性,其机制在于Hp可以保护Hb分子以抗衡酸变性,抗衡过氧化物酶对Hb珠蛋白的氧化和对亚铁血红素部分的破坏作用<sup>[98]</sup>。

由于各型Hp的分子量与其Hb当量的关系尚未确定,故最好以Hb结合量(Hb-BC)来表示血中Hp的含量,此相当于规定条件下一定容积血浆所能结合的Hb量。其正常范围在30~180mg%,因此Hp几占有正常 $\alpha_2$ -球蛋白部分的1/4量。Smith等(1961)<sup>[96]</sup>用过氧化物酶法测出152名正常人的血浆Hp含量为93±40毫克%。

在母亲子宫内,胎儿可以自行合成Hp<sup>[97]</sup>。至于Hp在血浆中的正常转换率,Nyman<sup>[98]</sup>曾根据其实验建议最大半衰期为5天。若进入循环的Hb量增多,Hp的转换也必然随之加快。由于Hp与Hb牢固结合,且复合物的分子量又很大,可以防止Hb从尿中排出,这也是机体避免大量铁损失的一个重要环节。

## (二) 銅的運轉

血浆中正常含有100微克%的銅,其95%与血浆銅蛋白(ceruloplasmin,简称Cp)牢固結合,其余5%大部分与清蛋白疏松結合。游离的Cu<sup>++</sup>总共少于1微克%。

**1. 血浆銅蛋白** 1948年Holmberg与Laurell首先在电泳中发现一种含Cu的 $\alpha_2$ -球蛋白成分,近五年内已用淀粉胶电泳和羟化磷灰石的柱层析法将它制成晶体,并肯定了其结构的非均一性<sup>[99]</sup>。Reichterich等<sup>[100]</sup>证实,从人血浆中可析出Cp-C和Cp-D两种主要成分,其含量各为70%和25%,纯度达95~100%,两者的物理化学性质和电泳行为亦各异。Cp-C的分子量为148,000(超离心法),每克分子含8个克分子銅,己糖7%;而Cp-D的分子量则为125,000,每克分子含6个克分子銅,己糖3.2%。总之与Cp-C比較,Cp-D分子中缺少一个含2个銅原子及高糖量

(28%) 的成分，其分子量为 23,000。由此推測，Cp-D 可能是 Cp-C 的前质或降解产物。Paulik<sup>[101]</sup> 加用浓尿素液处理和透析与上列方法配合，进一步指出天然的人 Cp 分子确能离解成 2 个以上具有不同结构的亚基。以神經酰胺酶处理 Cp，其电泳移速的轉慢与 Hp 情况相若<sup>[88]</sup>。

Cp 一般呈純蓝色，其吸收光譜的最强譜峰在 610 m $\mu$ ，在透析中使 Cu 分离后得到无色的去銅 Cp，而 Cp 遇还原剂时出现的褪色只是由于 Cu 原子的价数变化 ( $\text{Cu}^{++} \rightleftharpoons \text{Cu}^+$ )，Cu 并未从 Cp 脱离，故充氧后即重现蓝色。螯合剂如 EDTA 双鈉盐能从 Cp 分子的 8 个銅原子移去 4 个，由此导致其胺氧化酶活性降低 50%<sup>[102,108]</sup>。Humoller 等<sup>[102]</sup>还观察到，于清蛋白存在时銅离子不能起催化作用，且 Cp 在体内能夺取被清蛋白結合的銅。据此，他們对 Scheinberg 与 Morell 的学說提出修改，以为 Cp 的生理功能之一是接受清蛋白結合銅，将其轉运到特异的地点被利用，或至少使銅以无害形式排入胆汁中。

目前测定血中 Cp 的最簡便方法，是测定血浆总銅量以及与二乙基二硫代氨甲酸盐直接反应的銅量，两者之差即代表与 Cp 結合的銅量。血浆銅的正常值为 90~130 微克%，若按 Cp 分子量 150,000 及每克分子含 8 个銅原子計算，此相当于 27~39 毫克% 的 Cp，換言之，該蛋白仅占血浆总蛋白量的 0.4%。

Cp 在肝內合成，其血中水平受甲状腺素及雌激素的調節。

**2. 清蛋白結合銅** Gubler 及其同工<sup>[104]</sup> 在人血浆中发现少量与二乙基二硫代氨甲酸盐反应的銅，以为此很松結合的銅即机体轉运銅。近来用  $\text{Cu}^{64}$  的追踪實驗<sup>[105]</sup>也証明了，于口服或注射  $\text{Cu}^{64}$  后，放射活性首先出现在血浆清蛋白部分，继而掺入到 Cp 分子中，但清蛋白与 Cp 并无銅的直接交換。清蛋白結合銅的数量极微，每千个蛋白分子仅含有 1 个銅原子。

### (三) 锌的运轉

正常机体血中的锌含量仅有 90~150 微克%，約相当于每 50

个血浆蛋白分子含 1 个  $Zn^{++}$ 。Vikbladh [106] 証明，在生理 pH，血中鋅与血浆蛋白的連接有两种类型，即緊鍵(占 30~40%)和松鍵結合，而后的結合部位可能在半胱氨酸的  $\alpha$ -氨基或組氨酸的間二氮茂基，它代表体內的轉运鋅。由电泳得知，緊鍵結合鋅多集中于  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$ -球蛋白部分；而松鍵結合鋅則主要分布于清蛋白和  $\beta$ -球蛋白部分，其轉換率非常快。

### 三、血中的酶和激素

許多酶和激素常附着于某些血浆蛋白分子上进行运输，例如 Lawrence 与 Melnick [107] 用組織化学法配合淀粉胶电泳，发现血浆  $\beta$ -脂蛋白犹如血中酶的载体，至少有琥珀酸脫氢酶等 17 种酶以非活性状态存在于該蛋白中，而与后者形成不稳定的物理性复合物。又如 Lamedica 等 [108] 报告，血中腎上腺皮质类固醇和 ACTH 主要存在于密度  $> 1.210$  的脂蛋白組內。有关血中酶和激素的詳細資料可参阅专著(文献 109~111)。

### 血浆蛋白合成的遗传变异

人类紅血球的分型以及其在遗传学和临床上的重要意义，早已为医学界所注意。至于血浆蛋白合成的遗传变异則过去很少有人提及，最近在人类血浆蛋白的研究中发现某些成分，也有遗传变异现象。它具体表现于两个方面：

- (一) 某一特殊血浆蛋白的完全缺乏或数量上的显著减少；
- (二) 某一特殊血浆蛋白化学结构的改变。

第一种情况比較稀少，例如无清蛋白症，或无  $\gamma$ -球蛋白症等，构成一种不正常状态，或則影响健康或則危及生命。第二种情况比較多见，例如正常人結合珠蛋白或血浆轉鐵蛋白各个人的不相同，它們并不构成一种病态。至于产生这些遗传变异的机制如何，各方意见极不一致，尙待进一步研究。然而这些研究对于認識基因在蛋白质合成上的功用如何将有着十分明显的意义。

## 一、缺乏某一种特殊血浆蛋白质

现在已經发现的有：无清蛋白症，无 $\gamma$ -球蛋白症，无血浆銅蛋白症，及无結合珠蛋白症等。总的說來这些情况都不很多见，茲分述如下：

**1. 无清蛋白症** Bennhold 及其同工<sup>[112]</sup> 发现一个 31 岁的女性血浆中无清蛋白，随即又对其 220 个亲属进行調查研究<sup>[113]</sup>，发现其父母的血浆总蛋白量(父为 6.3 克%，母为 6.4 克%)及清蛋白占总蛋白的比数(父为 52.6%，母为 46.8%)都在正常数字范围以内。但患者本人及其弟的血浆总蛋白量皆較低，相应为 4.9 克% 和 5.0 克%。且两人血中均无清蛋白成分，而球蛋白皆有所增高。各种証據說明血中并无“异常的清蛋白”代替清蛋白在电泳譜上的位置。

向患者注射人血浆清蛋白或  $I^{181}$  标志的清蛋白，测得清蛋白在患者体内半衰期为 70 天，比正常人高。这說明缺乏清蛋白的原因，不是由于其破坏率大而是由于合成有缺陷。

据推測，无清蛋白症可能是缺乏有效清蛋白基因純合子。上述两人的父母是从堂表兄妹結婚。可能父和母都是杂合子，每人有一个有效清蛋白基因，其清蛋白产生率已足够維持破坏率使两者达到平衡，故表现正常。患者可能是由于有某种抑制基因出现，也可能是由于合成清蛋白所必需的某間接基因缺乏所致。

**2. 无 $\gamma$ -球蛋白症** Bruton<sup>[114]</sup> 报告一个曾患 19 次毒血症的 9 岁男孩，血浆中无 $\gamma$ -球蛋白。Gitlin<sup>[115]</sup> 发现波士頓有两小孩自幼嬰时即有反复的严重感染，血浆电泳譜也缺乏 $\gamma$ -球蛋白。此后文献上虽报告过約 50 例以上无 $\gamma$ -球蛋白症，然而实际情况极不一致，有許多人血中小量 $\gamma$ -球蛋白仍然存在，“无 $\gamma$ -球蛋白”名称不很恰当。据估計有 3 种主要情况，其中仅 1 种是遗传的。它們多数出现于男性，开始年齡很早，且終身如此。年齡在 3 个月以下的婴儿，球蛋白比較少，这是生理現象。

22 个被称为 $\gamma$ -球蛋白缺乏症的孩子，其血浆蛋白电泳譜大多

数没有  $\gamma$ -球蛋白。凡未經注射血浆或  $\gamma$ -球蛋白的孩子，免疫化学法証明他們血清中  $\gamma$ -球蛋白少于 25~50 毫克%<sup>[116~119]</sup>。他們的組織中亦少  $\gamma$ -球蛋白<sup>[120]</sup>，且相对地缺乏各种抗体。他們虽有过重复的严重病毒或立克氏体感染后也无相应的抗体。不仅如此，他們常常缺乏两个正常的  $\beta$ -球蛋白<sup>[121]</sup>，有的也沒有  $\beta_2$ -M-球蛋白<sup>[122]</sup>。

遗传性的无  $\gamma$ -球蛋白症是属于一种性連隱性特征<sup>[116]</sup>。在上述 22 个孩子当中，有 2 个是兄弟，有 1 个是另 1 个男孩的舅舅。有 3 个男孩有男性亲属在最近几年內死于細菌感染。另有 3 个男孩的舅舅、或母系表兄弟死于遗传性无  $\gamma$ -球蛋白症，看来此病只表现于男性，但却又通过女性遗传于后代。

向患者注入  $\gamma$ -球蛋白后，发现其在患者体内的半衰期为 50~60 天<sup>[116]</sup>，比正常人长，可见患者的缺陷是不能合成  $\gamma$ -球蛋白，对患者淋巴結作活体检查时，发现无  $\gamma$ -球蛋白患者沒有前漿細胞和漿細胞。

既然患者缺乏合成  $\gamma$ -球蛋白的漿細胞，并且又有少許  $\gamma$ -球蛋白出現。若說患者是完全缺乏  $\gamma$ -球蛋白等位基因，不如說他們是漿細胞遗传有关的缺陷，还合理些。沒有漿細胞， $\gamma$ -球蛋白合成就无法实现。当然漿細胞的形成也有可能依賴于  $\gamma$ -球蛋白基因的活化，因而無此等位基因即沒有漿細胞。

这种病虽属遗传性的，但是否从出生起繼續有  $\gamma$ -球蛋白合成缺陷尚不知道。此外有二种后天无  $\gamma$ -球蛋白症，一則起因不明，一則与恶性淋巴癌有关，都沒有家族联系。

### 3. 无血浆銅蛋白症 正常人血浆中約有 30~35 毫克的血浆銅蛋白。

Wilson 氏病患者血浆中則仅有少量 Cp，这是公认的事实；而且还有許多迹象表明这种情况是遗传的。用正常血浆或 I<sup>131</sup> 标志的 Cp 做注射实验，测得 Cp 在患者体内的半衰期相应为 3.4~4.7 天与 5~7 天；說明患者确系 Cp 合成不足，而不是破坏过甚。

Bearn<sup>[123]</sup>对 16 个家庭的 26 个威尔逊氏病的家譜作过研究，

患者的双亲和子女在临床和生化方面完全正常，而患者合成 Cp 力量却只有正常人的 1/4。这是一种隐性特征。患者不可能是 Cp<sup>o</sup>/Cp<sup>o</sup> 纯合子，因其血中尚有 Cp，也不可能 Cp/Cp<sup>o</sup> 杂合子，因其合成 Cp 力量仅 1/4。据推測患者可能有一等位基因引向于合成一种类似 Cp 而又不能与銅結合的蛋白质。另一可能性为杂合子（两个 Cp 基因中有一个改变了），患者代表这改变基因的純合子。第三种可能性为患者不是由于直接影响 Cp 合成的基因缺陷而是由于間接基因的改变。例如患者銅代謝的紊乱必然是遗传性的，很可能影响 Cp 的合成。

血浆銅蛋白的作用以及它与銅代謝的关系究竟如何，是生物化学上尙未解决的重要問題。給威尔逊氏病人以銅后，大便中銅排出量少于正常，而小便中多于正常<sup>[124~126]</sup>，这并不一定說明銅的吸收增加，患者血中非 Cp 銅及大脑中銅增加。这种现象在以大量銅注射正常动物时也不出现，而只是尿中銅增加，說明患者由于血中非 Cp 銅多故尿銅亦多。銅的排泄途径須經肝进入肠道。患者大便銅少可能由于其肝功能不足所致。由此看来，Cp 似乎与肠道中銅的吸收无关。

威尔逊氏病患者血浆中氧化酶含量，与 Cp 含量平行地下降，二者可能同为一物。Martin 与同工<sup>[127]</sup> 报告 Cp 能消耗 O<sub>2</sub> 以氧化 5-羥酪胺，形成黑色素。Curzon<sup>[128]</sup> 則說 Cp 对于对苯二胺、对羥苯二酚、dopa、肾上腺素、維生素 C、5-羥酪胺、吲哚酚等一系列化合物有氧化酶的作用，并指出 Cp 能氧化 Fe<sup>++</sup> 成 Fe<sup>+++</sup>，与細胞色素氧化酶相似，可能形成一个 Fe<sup>++</sup>-Cp 氧化系統，催化某些重要氧化过程。Brown 及同工<sup>[129]</sup> 发现在无氧情况下，如同时有琥珀酸及細胞色素 c 存在，心肌也能还原 Cp，氰化物对上述还原作用无影响，但能抑制其再氧化过程，CO 則对两个过程都无影响，由此可见 Cp 在生物氧化过程中必有其一定意义，有待进一步研究。在体外 Cp 呈现的强烈的抗坏血酸氧化酶活性，与全酶的銅蛋白复合物有关，由 Cp 分子离解出来的銅离子則并无酶活性<sup>[102]</sup>。且實驗証明，Cp 在氧化过程中极易与血浆中加入的 Cu<sup>6+</sup>

离子置换，此点又与抗坏血酸氧化酶极相类似。

**4. 无結合珠蛋白症** Galatius-Jensen<sup>[180]</sup> 检查新生婴儿的血液发现 90% 的婴儿都沒有 Hp。婴儿年龄才 1~2 个月的 52% 沒有 Hp；2~4 个月的 13%，4~6 个月的則有 3% 沒有 Hp。Rausen<sup>[97]</sup> 在 212 个婴儿臍带血中只发现 27 个有 Hp，其余都沒有。但无 Hp 的婴儿并无溶血迹象。27 个有 Hp 的孩子当中有 12 个母子的 Hp 不同类型。有 9 个婴儿为 1-1 型，其血中的 Hp 1 有可能是从 2-1 类型母亲胎盘透过来的，因 1-1 型 Hp 分子小。但是另 3 个 2-1 型 Hp 的孩子，其中两个的母亲为 2-2 型，血中沒有 Hp 1 蛋白质分子。故孩子必定是自己合成了 Hp 1 蛋白质。另一个 2-1 型孩子的母亲是 1-1 型，她沒有 Hp 2 蛋白质分子，孩子必然是自己合成了 Hp 2 蛋白质。究竟为什么多数初生婴儿沒有 Hp 呢？至今还是一个謎。

还有一种成年人沒有 Hp 的情况<sup>[126]</sup>，这使得 Hp 遗传的研究更加复杂。Smithies 在 1,000 个以上的白人当中只发现 1 个成年人沒有 Hp。Allison 和同工在 99 个尼日利亚黑人当中找到了 32 个血浆中沒有 Hp 的成年人。从各地調查結果进行比較，則同是黑色人种中也各自不同。

Blumberg 等<sup>[181]</sup> 发现原籍西非洲上沃尔特 84 人中有 42 人无 Hp，占 50%，这是目前发现的最高紀錄。总之，黑人与白人之間虽有区别，而各地区黑人的情况相差也极悬殊，还无法解释。

但无论如何我們对于血浆中找不到 Hp 的情况应当慎重考慮。除了上述初生婴儿血液中常沒有 Hp 是一种正常生理情况以外，各人所用检查方法的灵敏度不同，各种溶血疾病、肝脏疾患、尿毒症、阿迪生氏病等亦可使 Hp 浓度下降，以至于难以测定出来。故一般說來，血浆中沒有 Hp，不能据此就說 Hp<sup>0</sup> 基因的存在。

Harris 与同工<sup>[182]</sup> 自 107 对夫妇的 258 个儿女中发现 9 个的情况与 Smithies 氏规律不符，其中 4 个是无规律的，剩余的 5 个則是在 3 个很亲近的家庭里。有 4 个人的 Hp 类型不能与其母亲相容。其中一对父母的一方虽是 1-1 表现型，但却是 Hp<sup>1</sup>/Hp<sup>0</sup> 基

因型。又在 472 人中有 3 人血浆中无可测出的 Hp。其中有 1 人就是上述 5 人 3 家中之一家的成员。故 Harris 氏等认为有 3 种可能的解释：

- (i) 父母双方都是杂合子，并有  $Hp^0$  等位基因。
- (ii) 父母之一是  $Hp^1/Hp^0$  基因型杂合子，而其另一人则为  $Hp^2/Hp^2$  纯合子。没有 Hp 的子女为  $Hp^2/Hp^0$  型杂合子，但不能合成足够的 Hp 以达到可测出的浓度。
- (iii) 父母为 1—1 表现型和  $Hp^2/Hp^1$  基因型，不过他具有改变了的等位基因。血浆中测不出 Hp，不一定就是没有 Hp，可能是有一种不能与血红蛋白结合的“Hp”。

故  $Hp^0$  这个符号代表两种可能的基因：一种可能性是它代表不能合成 Hp 的基因；另一种可能性则是代表一种基因，它所合成的 Hp 不能与血红蛋白结合。现在对于合成 Hp 的遗传机制还很难理解。研究有  $Hp^0$  基因的人的儿女应能帮助解决这一问题。

上述各种由于遗传缺陷不能合成某一种蛋白质（或是合成数量不够）的情况，也表现为一个大家熟悉的无纤维蛋白元症，患者常因为流血的缘故，童年即丧失生命。还有一种非常少见的血浆中缺乏血浆转铁蛋白的情况，前者不属于血浆蛋白，后者缺乏资料故从略。

## 二、某一种血浆蛋白的化学结构发生改变

由于遗传变异在合成某一种血浆蛋白时结构有所改变，反映在血浆蛋白的淀粉胶电泳谱上。有时一种血浆蛋白变异形态达十余个之多。

**1. 副清蛋白症 (paralbuminemia)** Knedel<sup>[183]</sup> 在一人的血浆电泳谱上发现有两种清蛋白，称清蛋白  $A_1$  和  $A_2$ （后有人称为 A 和 B）。这种情况叫做副清蛋白症。对患者亲属作进一步研究时发现 6 人中有 4 人也如此。后来又在一家中找到 3 个<sup>[184]</sup>。Earle 及同工<sup>[185]</sup>用各种不同电泳方法从 56 个活的谱系中找到 25

个副清蛋白症。患者的血浆总蛋白平均为 7.6%，其中清蛋白約占 50%，清蛋白 B 与(A + B)之比值为  $0.58 \pm 0.044$ 。总之患者除血浆中出现异常的清蛋白 B 成分外，一切正常，而且清蛋白 B 的免疫化学和免疫电泳与一般清蛋白 A 相同。当然在一般“正常”人血浆电泳譜上却显不出清蛋白 B 的免疫反应来，說明一般人的血浆沒有这个特殊清蛋白。

据推測，清蛋白 A 与 B 的区别在于两者肽鏈上氨基酸成分有所不同。實驗証明在 pH 4.5~10 范围內，B 所帶(+)电荷比 A 多，易用电泳分离。例如 pH 8.6(巴比妥緩冲液)时 B 的移速比 A 小，若在 pH 4 以下或 11.3 以上則 A 与 B 电泳同行。副清蛋白 B 可能比 A 多了几个酪氨酸，酪氨酸代替了清蛋白 A 中相等数目的二羧酸残基，因此 B 所帶正电荷比 A 多，在电泳譜上显出差別来。由此可见，在这样的遗传变异中若只有肽鏈上氨基酸的替换而无电荷的差別，则虽有变异亦无从識別，所謂“正常”清蛋白的結構，不一定每个人的都完全相同。

Knedel<sup>[184]</sup> 調查的两家中 8 个副清蛋白患者，其中 6 人是女性。Earle 报告 25 个副清蛋白患者中 16 个男性、9 个女性。但患者的父母或其子女都沒有这种变异。在遗传学上两种清蛋白 A 和 B 代表两个常染色体，每个对清蛋白合成有同等效用。故副清蛋白应代表一个基因的变异。

**2. 血浆銅蛋白** Morell 与 Scheinberg<sup>[99]</sup>从 9,109 人的混和血浆中发现有 4~5 种 Cp，其中两种的組氨酸含量不同。Benditt 及其同工<sup>[186]</sup>用直立淀粉胶电泳检验 43 个第三期妊娠及 17 个不同病人和 5 个正常人，有一妊娠血浆中主要 Cp 成分为 Cp<sup>1F</sup>，其移速比一般 Cp 快些。另一个病人血浆中則有移行稍慢的 Cp<sup>1S</sup>，所有妊娠和一个服雌激素达 5 年的男性都有 Cp 2，說明雌性激素对 Cp 确有影响，而 2 个妊娠和 3 个正常人則有 Cp 3，但其浓度仅为 Cp 1 的 1/1,000。所称 Cp 1、Cp 2、Cp 3，都經過實驗証明确实含銅。不过血浆銅蛋白的多样性及其正常的遗传特点如何尚无现成資料。

**3. 血浆轉鐵蛋白** 絶大多数人的 T<sub>f</sub> 属于 C 型。但在美国黑

人和澳洲本地人中发现比  $T_f C$  移行慢的  $T_f D$ 。Smithies<sup>[137]</sup>以后又在欧洲和亚洲人血浆中发现比  $T_f C$  快的  $T_f B$ 。故共有  $T_f B$ 、 $C$  及  $D$  3 种类型。不仅如此，除  $C$  型  $T_f$  外， $B$  和  $D$  又有亚型，总迄今已发现血浆  $T_f$  蛋白成分达 10 种，按其向阳极移动速率大小为次序排列为： $B_0, B_{0-1}, B_1, B_2, C_1, D_0, D_4, D_1, D_2, D_3$ 。已发现有 13 种表现型为： $B_1 B_1, B_0 C, B_{0-1} C, B_1 C, B_2 G, B_2 D_1, CC, CD_0, CD_1, CD_2, CD_3, CD_4, D_1 D_1$ ，此中除  $CC$  纯合子为多数人的类型外，其他都不常见。而且纯合子血浆中只有一种  $T_f$ ，杂合子也只有两种  $T_f$  呈等量存在，即一个人的血浆中至多只能有两种  $T_f$ ，且杂合子的  $T_f$  与两个同合子  $T_f$  的混合物没有区别，这点与  $H_p$  完全不同。

各民族的不同  $T_f$  基因出现率还需要继续调查研究，但已经测得的数字表明  $T_f C$  基因在各民族各地区的出现率都是最高的。从前有些人以为只有黑色人种有移行慢的  $T_f D$ ，只有白色人种有移行快的  $T_f B$ 。但事实已充分说明  $B$  型、 $D$  型基因在不同肤色人种中的分布确有所不同，但非绝对的，而且 Bechman<sup>[138]</sup> 曾在一瑞典女性血浆中发现非常有趣的情况，她的  $T_f$  属  $B_2 D_1$  型即同时出现有快的和慢的  $T_f$  变异。

有许多迹象表明不同  $T_f$  的分子性质不同之处在于其所带电荷大小，而不在于其分子量之大小不同<sup>[139]</sup>。若果如此则十种  $T_f$  蛋白分子所带净电荷大小悬殊。一个氨基酸残基有带(+)、(0)、(-)3 种电荷的可能性，假如各种不同型的  $T_f$  分子只有一个氨基酸残基是可互换的，则电荷改变也只有 3 种可能性（这与血红蛋白 A、C、S 的情况相同）。故可以肯定 10 种不同  $T_f$  分子，必定是由于有几个氨基酸残基可以互换。另一方面也应当设想，假若由于变异所替换的氨基酸对电荷影响不大，也许还有不能用电泳方法区别而分子结构不同的  $T_f$  存在。

**4. 结合珠蛋白** 自从 Smithies 发现<sup>[12a,b]</sup>1—1 型、2—2 型与 2—1 型  $H_p$ ，并提出他的遗传假说<sup>[140]</sup>，认为  $H_p$  的合成是由一个常染色体控制，其坐点上有一对等位基因， $H_p^1$  与  $H_p^2$ 。凡  $H_p^1$  基因纯合子，其血清中只有 1—1 型  $H_p$  蛋白质分子； $H_p^2$  基因纯

合子則有 2—2 型的 Hp；而 Hp<sup>1</sup> 和 Hp<sup>2</sup> 杂合子就有 2—1 型 Hp。后来許多人作了广泛的家庭調查<sup>[142, 141]</sup>，證明这个假說是正确的。并依此推断 1—1 型父母不应当有 2—2 型子女，2—2 型父母也不应当有 1—1 型子女，若 1—1 与 2—2 型交配則只应当生出 2—1 型子女。調查的結果亦与此相符。

三类型 Hp 在不同地区或民族中分布不同，引起遗传学者和人类学家极大的兴趣。在世界各地进行了大量調查工作<sup>[142]</sup>，大多数作者采用了 Smithies<sup>[12]</sup>，淀粉胶电泳方法及 Paulik<sup>[143]</sup>，断續缓冲系統。所得結果如按 Hp<sup>1</sup> 基因出現率递增次序排列，則亚洲人 Hp<sup>1</sup> 基因出現率低而排在前面，欧洲各民族次之，中南美洲和非洲本地人的 Hp<sup>1</sup> 基因出現率最高，故列于末。这不过是大概的情况。一个大地区一种肤色的人，只要民族不同，也会各有其自己的特点。

对三类型 Hp 进行超离析和电泳研究，證明 1—1 型 Hp 确实只有一种蛋白质分子；而且这种成分在 2—1 型 Hp 中很少，在 2—2 型 Hp 中完全沒有。然而 2—1 型和 2—2 型 Hp 都各有一系列比 1—1 型在电泳中移行得慢的蛋白质分子。其中 2—1 型 Hp 每一成分的移行速度与 2—2 型的任何一个成分都不相同。說明三类型 Hp 各有其自己不同的成分<sup>[144a,b]</sup>。

2—2 型 Hp 在淀粉胶电泳譜上是一系列蛋白分子，而在紙上电泳却只显出一种速度<sup>[145]</sup>，說明 2—2 型 Hp 各种成分的分子量不同，但其所带电荷大小亦必与分子量大小成比例，否則在紙上电泳中不会有同等速度。Connell<sup>[146]</sup> 用超离析法求得 2—2 型 Hp 的平均分子量为 400,000，但其沉降性格极不均匀，分子量高的分量少，說明 2—2 型是一系列不同聚合体 ( $n=1, 2, 3, 4 \dots$  等)，每种聚合体的数量与聚合程度成反比例。

已經发现，血紅蛋白的遗传变异仅仅是由于蛋白质肽鏈上个别氨基酸的替换問題。Smithies 与 Connell<sup>[147]</sup> 設想在 Hp<sup>1</sup> 和 Hp<sup>2</sup> 基因分别影响之下所产生的 Hp 蛋白质，其结构上可能也只有很小的差异。而且两个基因中只有 Hp<sup>2</sup> 能引起一系列复杂 Hp

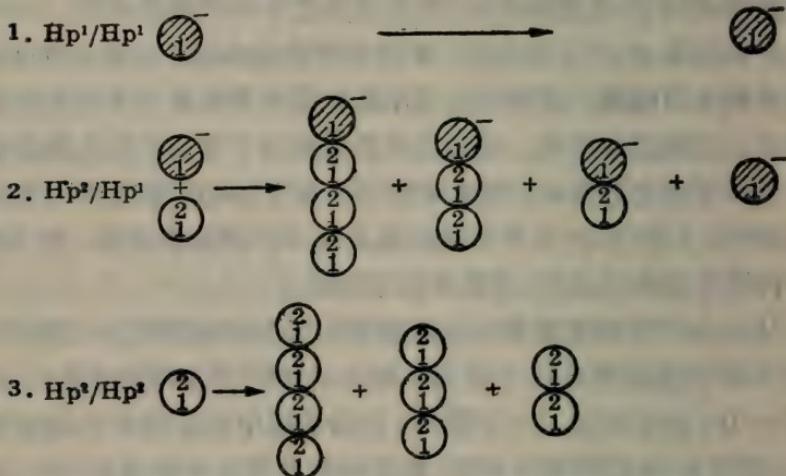
蛋白的生成。他們想到若在蛋白质肽鏈上插入一个半胱氨酸，这可說是一个小变化，但这就能使新的蛋白质产生一系列聚合体，完全是原有蛋白质所不可能的。他們終於分解了 Hp 成更简单的結構加以研究，并取得了成績。

开始时他們想用 0.01 M 硫乙酸还原 Hp，使其分子內双硫鍵成为—SH，但沒有成功。又想以 8 M 尿素破坏 Hp 的氢鍵也未实现。仅当硫乙酸和尿素同时使用时聚合体才分解了，电泳图也完全改变了。总之，一切都簡化了許多。經過硫乙酸和尿素处理后的 1—1型 Hp 只有一种产物，其移速比处理前大；2—2 型 Hp 的主要产物的移速与 1—1 型的相同，但至少还有一种較快的成分；2—1 型的产物則象是 1—1 型与 2—2 型产物的混合物。可见 3 种 Hp 结构中确有双硫鍵，虽然现在还不能肯定在形成聚合体时单个体就是通过双硫鍵連接的，毫无疑问双硫鍵对于蛋白质的完整和聚合体的产生都是必要的。看来 3 种 Hp 分子結構中最主要的部分是共同的，只有 Hp<sup>1</sup> 以外的基因也参与 Hp 合成的时候，则 Hp 分子內将有另外的成分，其性质尚不明确。

Marney<sup>[148]</sup>研究腎性綜合症患者的蛋白尿时发现 2—2型 Hp 純合子尿中沒有 Hp。1—1型 Hp 純合子尿中 Hp 的浓度最大，与血浆中 Hp 浓度相同，2—1型 Hp 杂合子尿中有 3 种 Hp，相当于 1—1型 Hp，蛋白质成分最多，也說明各人 Hp 分子大小不同，尿中只有分子量小的 1—1型 Hp，沒有分子量大的 2—2型 Hp。最近 Smith<sup>[149]</sup>研究 Hp N-末端氨基酸发现 3 类 Hp 都具有相等克分子量的纈氨酸与异亮氨酸，两个 N-末端氨基酸。据此計算出 1—1型 Hp 的分子量应当是 80,000，这与超离析法測得的数字相符 (85,000)。故 1—1型 Hp 有两个肽鏈，各有一个末端氨基酸。既然 3 个类型 Hp(1—1, 2—2, 2—1) 的 N-末端氨基酸相同，而其分子量又相差甚远，这一工作說明 2—1型与 2—2型可能是一系列不同倍数的聚合体。

Hp 的遗传变异是非常复杂而又极饒兴趣的。通常一个基因只能影响一种特殊蛋白质的合成，使具有一种特异的結構。杂合

子因为有两种不同基因，就能合成两种不同蛋白质各居半数存在，成为两个纯合子产物的混合体。这里不仅是杂合子所合成的2—1型Hp不同于纯合子1—1型加纯合子2—1型的混合体，而且2—1型与2—2型都不止有一种产物，而是各有一系列彼此不同的产物。以往还没有看见过一个基因控制着许多特异蛋白质合成的情况。Allison<sup>[150]</sup>想用一种简单的构图说明 Hp 合成的遗传控制。他以◎代表 Hp<sup>1</sup> 基因合成的蛋白质，圆球下面的 1 代表一个结合点；又以②代表基因 Hp<sup>2</sup> 所合成的蛋白质，② 代表两个结合点；以→代表电泳移行方向，并作出如下图式：



第 1 种情况是 1—1 型纯合子血浆中只一种 Hp 蛋白质，分子量低，移行很快，电泳时走在最前面。

第 2 种情况是 2—1 型杂合子血浆中有一系列 Hp 蛋白质，其中有一种与 1—1 型 Hp 相同，其他成分都比 2—2 型 Hp 移行快。

第 3 种情况是 2—2 型纯合子血浆中有一系列 Hp，移行较 2—1 型的慢。

Hp 1 蛋白质只有一个结合点（图上◎表示），没有互相结合，只有单体存在，这就是  $\text{Hp}^1/\text{Hp}^2$  纯合子合成的 Hp。Hp<sup>2</sup> 基因影响的产物 Hp 2 具有两个结合点（图上②表示），能互相结合成

二聚、三聚以至于多聚合体。在 pH 8.4 时, Hp 2 所带(—)电荷比 Hp 1 少, 杂合子同时合成 Hp 1 与 Hp 2, 它们可以互相结合形成混合聚合体, 但 Hp 1 只有一个结合点, 故每一条聚合体中只能有一个 Hp 1 分子。在 pH 8.4 的时候, Hp 1 所带(—)电荷大于 Hp 2 所带的, 故 Hp 1 与 Hp 2 混合聚合体的电泳速度比纯 Hp 2 聚合体的大。且在形成混合聚合体时剩余的 Hp 1 就成为纯合子 1-1 型的 Hp 成分。

Hp 遗传变异问题由于 3 种不常见的新型 Hp 而更复杂:(1) 2-1 M 型(改变了的 2-1 型) 发现比较早, 在电泳中与杂合子 2-1 型移速相似, 但其中快速成分多于 2-1 型。在美国黑人中较常见, 每 10 人中约有 1 个<sup>[151]</sup>, 白种人很少见。(2) Gibilett<sup>[151]</sup>发现美国黑人 Johnson 母女 2 人血浆电泳谱中有一系列 Hp, 有些蛋白分子的移速为以往所未见过, 称为 Johnson 型。(3) Galatius-Jensen<sup>[141]</sup>发现一种 Hp, 其电泳图谱相当于 2-1 型加 2-2 型。这 3 种变异型加上常见的 3 种类型, 使得 Hp 遗传的表现型成为 6 个了。

Connell 及同工<sup>[152]</sup>在有尿素存在情况下用硫乙醇还原分解纯 Hp, 自 1-1 型得到电泳移速一快一慢两种产物, 称之为 Hp<sup>1F</sup> 及 Hp<sup>1S</sup>。故 Hp<sup>1</sup> 实际上代表两个等位基因, 即 Hp<sup>1F</sup> 和 Hp<sup>1S</sup>。因此控制 Hp 遗传的不止两个而是 3 个等位基因, 即 Hp<sup>1F</sup>; Hp<sup>1S</sup>; Hp<sup>2</sup>。故相应地有 6 个表现型, 即原 1-1 型与 2-1 型之下应有亚型:

$$\begin{array}{c} \text{1-1 型} \left\{ \begin{array}{l} \text{1F-1F} \\ \text{1F-1S} \\ \text{1S-1S} \end{array} \right. \quad \text{2-1 型} \left\{ \begin{array}{l} \text{2-1F} \\ \text{2-1S} \end{array} \right. \quad \text{2-2 型} \end{array}$$

1-1 型有 3 个亚型, 2-1 型有两个亚型, 加上 2-2 型则为 6 个表现型。已经发现的 Hp 类型除常见的 3 种 1-1、2-1、2-2 型以外, 还有 2-1 M 型、Johnson 型与 Galatius-Jensen 1958 年发现的新型, 也是 6 种。究竟理论上的 6 种表现型与发现的 6 种类型是否相符, 还待研究。

血漿蛋白合成遺傳變異表現于各種血漿蛋白成分上，表現形式也十分複雜。同時一種蛋白質或者所帶電荷不同，或者分子大小懸殊，甚至變異引起一系列新蛋白成分的產生，其機構究竟如何頗為令人費解。然而血紅蛋白肽鏈上某一個氨基酸的替換即有此種效果。結合珠蛋白變異很可能由於一個氨基酸的替換而引起一系列聚合體的形成，而轉鐵蛋白則因此產生了電荷的差異。兩者都能影響電泳，故容易發現。反之，如果變異不產生這種影響則不易發現，成為“無形”的變異。由此可見，血漿蛋白合成的變異可能比我們已發現的更為普遍。同時血漿蛋白合成變異問題的徹底解決，亦必有待於有關蛋白質結構的進一步研究。

## 結 語

正如生物化學其他方面一樣，血漿蛋白的研究進展很快，不論在血漿蛋白的分離鑑定，或是理化性質、生化性質和生理功能各方面，都做了許多工作，取得巨大的成績。

本文所報導的只不過其中一小部分，真可說是挂一漏萬。儘管如此，血漿蛋白研究中兩個最根本的問題，各種血漿蛋白質的結構問題和生物合成問題，可說還是空白點。即以研究得最多的清蛋白而言，也僅作了末端氨基酸的分析。其他微量的血漿蛋白質則甚至連完全的氨基酸成分分析資料亦尚付缺如。各種血漿蛋白在何處產生以及如何合成的，這些研究幾乎尚未開始，而對血漿蛋白的理化和生化性質如何解釋，其生理功能如何說明，又必須以其分子結構為基礎。遺傳變異發生的機制如何，則皆涉及生物合成。可見血漿蛋白分子結構和生物合成的研究，已成為今后急待開展的方向，不容忽視。

## 參 考 文 獻

- [1] Tiselius, A., *Trans. Faraday Soc.*, 33, 524, 1937.
- [2] Longsworth, L. G. and Jacobsen, C. F., *J. Phys. Chem.*, 53, 126, 1949.

- [3] Cohn, E. J., *Physiol. Rev.*, **5**, 349, 1925.
- [4] Cohn, E. J. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 465, 1950.
- [5] Oncley, J. L., Melin, M., Richert, D. A., Cameron, J. W., & Gross, P. M., *Ibid.*, **71**, 541, 1949.
- [6] Surgenor, D. M., Strong, L. E., Taylor, H. L., Gordon, Jr. R. S. & Gibson, D. M., *Ibid.*, **71**, 1223, 1949.
- [7] Surgenor, D. M. et al., *J. Phys. & Colloid Chem.*, **55**, 94, 1951.
- [8] Cohn, E. J., McMeekin, T. L., Oncley, J. L., Newell, J. M., and Hughes, W. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 3386, 1940.
- [9] Cohn, E. J., Strong, L. E., Hughes, W. L., Mulford, D. J., Ashworth, J. N., Melin, M., and Taylor, H. L., *Ibid.*, **68**, 459, 1946.
- [10] Lederer, M., An Introduction to paper Electrophoresis and Related Methods, Paris, 1955.
- [11] Walstenholme, G. E. W., and Millar, E. C. P., Paper Electrophoresis (A Ciba Foundation Symposium), J. & A. Churchill, London, 1958.
- [12] Smithies, O., (a) *Nature*, **175**, 307, 1955; (b) *Biochem. J.*, **61**, 629, 1955; (c) *Ibid.*, **71**, 585, 1959.
- [13] Grabar, P., and William, C. A., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 67, 1955: "Advances in Protein Chemistry", **XIII**, 1, 1958.
- [14] (a) Svensson, H. et al., *Science Tools*, **2**, 11, 1955.  
(b) Svensson, H. et al., *Ibid.*, **4**, 1, 1957.
- [15] Schultze, H. E. (Chairman), Round Table Discussions on Protein Pattern in Normal and Pathological Cases, Protides of the Biological Fluids (Peeters, H. ed.), pp. 311~318, Elsevier Publishing Co., London, 1959.
- [16] Phelps, R. A. and Putnam, F. W., Chemical Composition and Molecular Parameter of Purified Plasma Proteins, The Plasma Protein (Putnam, F. W., ed.), 5th Chapter, pp. 143~178, Academic Press, New York, 1960.
- [17] 曾良忠雄, 血浆蛋白质: 血清アルブミン, 蛋白质化学(編集赤堀四郎と水島三一郎), 卷3, p. 363, 共立出版株式会社, 东京, 1955。
- [18] 上代皓三, 血液, 生化学讲座(編集赤堀四郎など), 卷7, 医学の生化学 I (編集担当者广畠龙造), p. 131~133, 共立, 东京, 1959。
- [19] Hughes, W. L., Interstitial Proteins: The Proteins of Blood Plasma and Lymph, The Proteins (Neurath, H. and Bailey, K. ed.) Vol. II, Part b, p. 663, Academic Press, New York, 1954.
- [20] Sörn, F., In "Symposium on Protein Structure" (Neuberger, A., ed.) p. 77, Wiley, New York, 1958.

- [21] Peters, T., Logan, A. C. and Stanford, C. A.: *Biochim. et Biophys. Acta*, **30**, 88, 1958.
- [22] Schultze, H. E.: *The Synthesis of Antibodies and Proteins, Protides of the Biological Fluids* (Peeters, H. ed.), p. 1, Elsevier Publishing Co., London, 1960.
- [23] Мельтева, Н. Н., Резников, М. С., Тукачинский, С. Е. и Шатина, Л. Б., *Биохимия*, **25**, 255, 1960.
- [24] Anfinsen, C. B. and Redfield, R. R., *Advances in Protein Chem.*, **XI**, 1, (p. 62~63), 1956.
- [25] Haurowitz, F., *Progress in Biochemistry Since 1949*, pp. 209~212, Interscience Publishers, New York, 1959.
- [26] Charlwood, P. A., *Biochem. J.*, **78**, 163, 1961.
- [27] Oncley, J. L., Scatchard, G., and Brown, A., *J. Phys. & Colloid Chem.*, **51**, 184, 1947.
- [28] Low, B. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 4830, 1952.
- [29] Loeb, G. I., and Scheraga, H. A., *J. Phys. Chem.*, **60**, 1633, 1956.
- [30] Foster, J. F., *Plasma Albumin, The Plasma Protein* (Putnam, F. W. ed.), 6th Chapter, pp. 179~240, Academic Press, New York, 1960.
- [31] Perkins, D. J., *Biochem. J.*, **80**, 668, 1961.
- [32] Gutmann, H. R. and Nagasawa, H. J., *J. Biol. Chem.*, **235**, 3466, 1960.
- [33] Putnam, F. W., and Neurath, H. J., *J. Biol. Chem.*, **159**, 195, 1945.
- [34] Yang, J. T., and Foster, J. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5560, 1953.
- [35] Pallansch, M., and Brigg, D. R., *Ibid.*, **76**, 1396, 1954.
- [36] Goodman, D. S., *Ibid.*, **80**, 3892, 1958.
- [37] Thompson, T. E., and McKernan, W. M., *Biochem. J.*, **81**, 12, 1961.
- [38] McKernan, W. M. and Ricketts, C. R., *Ibid.*, **76**, 117, 1960.
- [39] Tanford, C., *Hydrogen ion Titration Curves of Proteins, "Electrochemistry in Biology and Medicine"* (Shedlovsky, T., ed.), pp. 248~265, Wiley, New York, 1955.
- [40] Yang, J. T., and Foster, J. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1588, 1954.
- [41] Tanford, C. and Buzzell, J., *J. Phys. Chem.*, **60**, 225, 1956.
- [42] Reichmann, M., and Charlwood, P., *Can. J. Chem.*, **32**, 1092, 1954, Cited by Foster, J. F. in literature (30).
- [43] Aoki, K., and Foster, J. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 3385, 1957.
- [44] Aoki, K., and Foster, J. F., *Ibid.*, **79**, 3393, 1957.
- [45] Saifer, A., Elder, A. H. and Vecsler, F., *J. Biol. Chem.*, **235**, 1346, 1960.
- [46] Schmid, K. and Polis, A., *Ibid.*, **235**, 1821, 1960.

- [47] Cann, J. R., *Ibid.*, **235**, 2810, 1960.
- [48] Aoki, K. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 4904, 1958.
- [49] Vallence-Owen, J. and Liley, M. D., *Biochem. J.*, **74**, 18, 1960.
- [50] Scatchard, G., Batchelder, A., and Brown, A., *J. Clin. Invest.*, **23**, 458, 1944.
- [51] Oncley, J. L., The Lipoproteins of Human Plasma in Blood cells and Plasma Proteins. (Tullis, J. L. ed.), p. 337, Academic Press, New York, 1953.
- [52] Oncley, J. L., Lipoproteins of Human Plasma, The Harvey Lectures, pp. 71~91, Academic Press, New York, 1954~55.
- [53] Троицкий, Г. В., Липопротеиды плазмы крови и некоторых тканей, Успехи биологической химии, Том III, стр. 152, Изд. АН СССР, Москва, 1958.
- [54] (a) Lindgren, F. T., and Nichols, A. V., Structure and Function of Human Serum Lipoproteins, Plasma Proteins (Putnam, F. W. ed.), Vol. II. 11th Chapter, pp. 1~58, Academic Press, New York, 1960.  
(b) Gurd, F. R. N., Some naturally occurring lipoprotein Systems, Lipide Chemistry (Hanahan, D. J. ed.), 9th Chapter, pp. 260~298, John Wiley & Sons, New York, 1960.
- [55] Gofman, J. W., Lindgren, F. T., and Elliot H., *J. Biol. Chem.*, **179**, 973, 1949.
- [56] Hayes, T. L., and Hewitt, J. E., *J. Appl. Phys.*, **11**, 425, 1957.
- [57] Hayes, T. L., Murchis, J. C., Lindgren, F. T. and Nichols, A. V., *J. Mol. Biol.*, **1**, 297, 1959. *Abstracted in Chem. Abst.* **54**, 8960a, 1960.
- [58] Nelson, G. J. and Freeman, N. K., *J. Biol. Chem.*, **235**, 579, 1960.
- [59] Green, C., *Ibid.*, **235**, 2884, 1960.
- [60] Anfinsen, C. B. and Redfield, R. R., *Advances in Protein Chem.*, **XI**, 1, (p. 64~65), 1956.
- [61] Kugelmann, I. N., Biochemistry of Blood in Health and Disease, Chapter V, p. 109~110, Charles, C. Thomas Publisher, Springfield, 1959.
- [62] Shore, B., *Arch. Biochem. Biophys.*, **71**, 1, 1957.
- [63] Hahn, P. F., *Science*, **98**, 19, 1943.
- [64] Graham, D. M., Lyon, T. P., Gofman, J. W., Jones, H. B., Yankley, A., Simonton, L., and White, J., *Circulation*, **4**, 666, 1951.
- [65] Lindgren, F. T., Freeman, N. K., and Graham, D. M., *Ibid.*, **6**, 474, 1952.
- [66] Binet, L., Marquis, M., and Quivy, D., *Compt. rend.*, **249**, 2693, 1959.

- [67] Korn, E. D., *Science*, **120**, 399, 1954.
- [68] Korn, E. D., *J. Biol. Chem.*, **236**, 1638, 1961.
- [69] 中国医科大学生物化学讲义, 细胞化学篇, 第四章——脂蛋白, 北京, 1961年。
- [70] Троицкий, Г. В., *Биохимия*, **15**, 426, 1950.
- [71] Троицкий, Г. В., и Тарасова, Л. С., *То же*, **20**, 19, 1955.
- [72] Laurell, C. B., Metal-binding Plasma Proteins and Cation Transport, *The Plasma Proteins* (Putnam, F. W. ed.), 10th Chapter, pp. 349~378, Academic Press, New York, 1960.
- [73] 曾良忠雄, 血浆蛋白质:  $\beta$ -Metal-Combining protein (编集赤堀四郎と水島三一郎), 卷3, p. 369, 共立, 东京, 1955。
- [74] Schade, A. L., and Caroline, L., *Science*, **104**, 340, 1946.
- [75] Surgenor, B. A., Koechlin, B. A. and Strong, Z. E., *J. Clin. Invest.*, **23**, 73, 1949.
- [76] Koechlin, B. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2649, 1952.
- [77] Boettcher, E. W., Kistler, P. and Nitschmann, H., *Nature*, **181**, 490, 1958.
- [78] Patras, B., and Stone, W. H., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **107**, 861, 1961.
- [79] Smithies, O., *Nature*, **181**, 1202, 1958.
- [80] Buettner-Janusch, J., *Ibid.*, **192**, 632, 1961.
- [81] Jørgen, C. & Munkner, T., *Ibid.*, **189**, 60, 1961.
- [82] Schultze, H. E., über Glykoproteine, *Dent. Med. Wochschr.*, **83**, 1742, 1958.
- [83] Parker, W. C. & Bearn, A. G., *Science*, **133**, 1014, 1961.
- [84] Poulik, M. D., *J. Immunol.*, **82**, 502, 1959.
- [85] Klein, E., *Acta Haematol.*, **17**, 263, 1957.
- [86] Dancis, J., Braverman, N., and Lind, J., *J. Clin. Invest.*, **36**, 398, 1957.
- [87] Rausen, A. R., Gerald, P. S. and Diamond, L. K., *Nature*, **192**, 182, 1961.
- [88] Katz, J. H., *J. Clin. Invest.*, **40**, 2143, 1961.
- [89] Faber, M. & Jordal, R., *Nature*, **192**, 181, 1961.
- [90] Polonovski, M. & Jayle, M. F., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **21**, 66, 1939. Cited by Laurell, C. B. in literature (72).
- [91] Laurell, C. B., Purification and Properties of Different Haptoglobins, Protides of the Biological Fluids, p. 149, Elsevier Publishing Co., London, 1958.
- [92] Steinbuch, M. & Quentin, M., *Nature*, **190**, 1121, 1961.
- [93] Robert, L. et Serpicelli, J., Mécanisme de Compinaison de L'Hé-

moglobine avec L'Haptoglobine et Cinétique de l'activité Peroxydase du Complexe, Protides of the Biological Fluids, p. 154, Elsevier Publishing Co., London, 1959.

- [94] Rafelson, M. E., Cloarec, L., Moretti, J., and Jayle, M. F., *Nature*, **191**, 279, 1961.
- [95] Jonus, N. C. H., Gardner, B. and Helps, R., *Biochem. J.* **79**, 220, 1961.
- [96] Smith, H. & Owen, J. A., *Ibid.*, **78**, 723, 1961.
- [97] Rausen, A. R., Gerald, P. S., & Diamond, L. K., *Nature*, **191**, 717, 1961.
- [98] Nyman, M., *Scand. J. Lab. & Clin. Invest.*, **11**(Suppl. 39), 1959.
- [99] Morell, A. G., and Scheinberg, I. H., *Science*, **131**, 930, 1960.
- [100] Reichterich, R., Temperli, A., und Aeby, H., *Biochem. et Biophys. Acta*, **56**, 240, 1962.
- [101] Paulik, M. D., *Nature*, **194**, 842, 1962.
- [102] Humoller, F. L., Mockler, M. P., Holthanus, J. M. & Mahler, D. J., *J. Lab. & Clin. Med.*, **56**, 222, 1960.
- [103] Rice, E. M., *Federation Proc.*, **19** (Nº 1, Part 1), 77, 1960.
- [104] Gubler, C. J., Lahey, M. E., Cartwright, G. E., and Wintrobe, M., *J. Clin. Invest.*, **32**, 405, 1953.
- [105] Jensen, W. N. & Kanim, H., *J. Lab. & Clin. Med.*, **49**, 200, 1957.
- [106] Vikbladh, I., *Scand. J. Clin. & Lab. Invest.*, **3** (Supp 1. 2), 1951.
- [107] Lawrence, S. H., and Melnick, P. J., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **107**, 998, 1961.
- [108] Lamedica, G., Ghizhitti, G., Astengo, F., & Correale, L., Arch. E. "Moragliaro" *Patol. e clin.*, **15**, 37, 1959.
- [109] Kugelmass, I. N., Biochemistry of Blood in Health and Disease, p. 245, 265, Charles, C. Thomas Publisher, Springfield, 1959.
- [110] Fishman, W. H., Plasma Enzymes, The Plasma Proteins(Putnam, F. W. ed.), Vol. II, 12th Chapter, pp. 59~104, Academic Press, New York, 1960.
- [111] Anatoriades, H. N., Circulating Hormones, The Plasma Proteins (Putnam, F. W. ed.), Vol. II, 13th Chapter, pp. 105~136, Academic Press, New York, 1960.
- [112] Bennhold, H., Peters, H., und Roth, E., *Verh. deut. Ges. inn. Med.*, **60**, 630, 1954.
- [113] Bennhold, H. *Ibid.*, **62**, 658, 1956.
- [114] Bruton, O. C., *Pediatrics*, **9**, 722, 1952.
- [115] Gitlin, D. et al., *Scient. Amer.*, **197**, 93, 1957.
- [116] Gitlin, D., Bull, N. Y., *Acad. Med.*, **31**, 359, 1955.

- [117] Gitlin, D., and Janeway, C. A., in "Progress in Hematology" (Toocantins, E. ed.), p. 318, Grune and Stratton, New York, 1956.
- [118] Gitlin, D., Janeway, C. A., Apt, L., and Craig, J. M., in "Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States" (Lawrence, H. S. ed.), 10th Chapter, p. 375, Hoeber, New York, 1959.
- [119] Janeway, C. A. & Gitlin, D., *Advances in Pediat.*, **9**, 65, 1957.
- [120] Gitlin, D., Landing, B. H., and Whipple, A., *J. Exptl. Med.*, **97**, 163, 1953.
- [121] Giedion, A., and Scheidegger, J. J., *Helv. Paediat. Acta*, **12**, 241, 1957.
- [122] Grabar, P., Burtin, P., and Seligmann, M., *Rev. franc. etudes clin. et biol.*, **3**, 41, 1958.
- [123] Bearn, A. G., *Am. J. Med.*, **15**, 442, 1953.
- [124] Bearn, A. G. and Kunkel, H. G., *J. Lab. & Clin. Med.*, **45**, 623, 1955.
- [125] Bush, J. A., Mahoney, J. P., Markowitz, H., Gubler, C. J., Cartwright, G. E., and Wintrobe, M. M., *J. Clin. Invest.*, **34**, 1766, 1955.
- [126] Earl, C. J., Moulton, M. T., and Silverstone, B., *Am. J. Med.*, **17**, 205, 1954.
- [127] Martin, G. M., Benditt, E. P., *Arch. Biochem. Biophys.*, **90**, 208, 1960.
- [128] Curzon, G., *Biochem. J.*, **79**, 656, 1961.
- [129] Brown, C., & White, J. B., *J. Biol. Chem.*, **236**, 911, 1962.
- [130] Galatius-Jensen, F., *Acta Genetic et Statist. Med.*, **7**, 549, 1957.
- [131] Blumberg, B. S., and Gentile, Z., *Nature*, **189**, 897, 1961.
- [132] Harris, H., Robson, E. B., and Soniscaleo, M., *Ibid.*, (a) **182**, 452, and (b) **8**, 1324, 1958.
- [133] Knedel, M., *Blut*, **3**, 129, 1957.
- [134] Knedel, M., *Clin. Chim. Acta*, **3**, 71, 1958.
- [135] Earle, D. P., Hutt, M. P., Schmid, K., and Gitlin, D., *Trans. Assoc. Am. Physicians*, **71**, 69, 1958.
- [136] Benditt, E. P., and Martin, G. M., *Nature*, **190**, 927, 1961.
- [137] Smithies, O., *Ibid.*, **180**, 1482, 1957.
- [138] Beckman, L., *Ibid.*, **194**, 796, 1962.
- [139] Smithies, O., & Hiller, O., *Biochem. J.*, **72**, 121, 1959.
- [140] Smithies, O., and Walker, N. F., *Nature*, **176**, 1265, 1955.
- [141] Galatius-Jensen, F., *Acta Genet. Statist. Med. (Basel)*, (a) **8**, 232, and (b) **8**, 248, 1958.
- [142] Sutton, H. E., Matson, G. A., Robinson, A. R., & Roucky, R. W.,

- Am. J. Human Genetics*, **12**, 337, 1960.
- [143] Paulik, M. D., *Nature*, **180**, 1477, 1957.
- [144] (a) Bearn, A. G., and Franklin, E. C., *Science*, **128**, 596, 1958.  
(b) Ditto., *J. Exptl. Med.*, **109**, 55, 1958.
- [145] Smithies, O., and Paulik, M. D., *Nature*, **177**, 1033, 1956.
- [146] Connell, G. E. et al., *Biochem. J.* **72**, 115, 1959.
- [147] Smithies, O., and Connell, G. E., Ciba Found. Symp., Biochemistry of Human Genetics, pp. 178~188, Churchill, London, 1959.
- [148] Marney, A., *Nature*, **191**, 74, 1961.
- [149] Smith, H., *Ibid.*, **193**, 286, 1962.
- [150] Allison, A. C., *Ibid.*, **183**, 1312, 1959.
- [151] Giblett, E. R., *Ibid.*, **183**, 192; *Ibid.*, 1589, 1959.
- [152] Connell, G. E. et al., *Ibid.*, **193**, 505, 1962.

## 第二次全國生物化學學術討論會 研究論文(摘要)題目

- (1) 測定血清清蛋白和球蛋白的新方法 ..... 陳同度 王淑春
- (2) 雞蛋清蛋白加熱變性時的水解作用 ..... 陳同度 周翊鍾
- (3) 超聲波對牛血清清蛋白某些理化性質及抗元性的影響 ..... 梁植權 王琳芳 潘華珍 王來屹
- (4) 以硫酸右旋糖酐大量分離人血清 $\beta$ 脂蛋白的研究 ..... 王克勤 陳玉芳 冉碧芳
- (5) 血清蛋白澱粉膠電泳方法研究 ..... 王兆裕
- (6) 肽的研究 I. 帶保護基的胰島素A鏈氨基端五肽的合成 ..... 汪猷 徐杰誠 陸仁榮 黃剛 黃敬堅
- (7) 肽的研究 II. 帶保護基的胰島素A鏈羧端九肽的合成 ..... 汪猷 黃敬堅 張偉君 屠傳忠 王志勤  
徐元耀 湯永禪 陸蘊華 金善輝 龔岳亭
- (8) 肽的研究 III. 牛胰島素A鏈中段帶保護基團的七肽( $N$ -苄基- $S$ -苄基-L-半胱氨酸-S-苄基-L-半胱氨酸-L-丙氨酸-L-絲氨酸-L-賴氨酸-S-苄基-L-半胱氨酸-L-絲氨酸酰胺)的合成 ..... 汪猷 陸熙炎 徐杰誠 張偉君 陳毓群  
蔡祖輝 韓廣甸 吳照華 徐錦文 余微明 仲同生
- (9) 胰島素B鏈中肽段的合成 V. 胰島素B鏈C-端十肽衍生物的合成及其降解的研究 ..... 龔岳亭 葛麟俊 鈕經義
- (10) 胰島素S-磷酸型B鏈的直線聚合作用 ..... 魯子賢 彭加木 張友尚 曹天欽
- (11) 菖麻種籽蛋白的滴定曲線 ..... 徐永華 孫崇榮
- (12) 应用澱粉凝膠電泳法測定我國(上海)人的H<sub>p</sub>型 ..... 夏其昌 丘萬榮 方深高
- (13) 原肌球蛋白晶體的電子顯微觀察 ..... 曹天欽 龔祖墳 鄭永水 張友尚 彭加木
- (14) 兔原肌球蛋白中的半胱氨酸 ..... 任梅軒 徐俊杰 龔祖墳 曹天欽

- (15) 海洋動物肌肉結構蛋白的研究 I. 軟骨魚系原肌球蛋白的一些特性.....潘家秀 王桂元 曹蕙婷 曹天欽
- (16) 在過量巯基化合物存在時蛋白質巯基的測定.....杜雨蒼 鄭承魯
- (17) 生物高分子中激子和空穴的轉移.....張華
- (18) 蛋白質分子的電子結構與催化作用.....張華
- (19) 血清對巯基化合物氧化速度的影響.....吳蔚 吳祖澤
- (20) 嘧啶核糖核苷酸的比色測定.....夏壽萱 施秉儀
- (21) 磷酸鈣柱層析在動物組織 RNA 的分離及穩定性研究方面的應用.....劉士廉 林沁瑛 肖梓仁 劉培楠
- (22) 超聲波輻射對大分子核糖核酸的影響.....蔡良琬 陳煜清 張福微 梁植權
- (23) 核酸碱基組成分析方法的研究 III. 脫氧核糖核酸嘌呤和嘧啶衍生物直接分光光度測定法.....胡炳晨 劉承斌 吳聰 梁植權
- (24) 大腸杆菌可溶性核糖核酸的提取及其性质的研究.....吳冠芸 胡炳晨 杨秋霜 劉樹忠 張福微  
陳煜清 劉承斌 魏文玲 陳海深 梁植權
- (25) 核酸類化合物對  $C^{14}$ -甘氨酸參入到大腸杆菌原生質体制劑中的影響.....董霖 孟威廉
- (26) 可溶性核糖核酸的酶促降解 I. 大腸杆菌核糖核酸酶對大腸杆菌可溶性核糖核酸的作用.....劉望夷 王德寶
- (27) 家蚕及蓖麻蚕絲腺體核糖核酸的結構分析.....劉新垣 王德寶
- (28) 2-硫尿嘧啶對大腸杆菌中硝酸還原酶誘導形成的影響.....沈思祥 沈寅初 沈仁權
- (29) 大白鼠尿中脫氧核糖核酸酶(DNase)的研究.....孟清孟 張成端
- (30) 肽的酶激活作用.....崔桂芳 于富才 王德寶
- (31) 金屬離子與核酸的相互作用 I. 鋅離子與核酸結合的光譜研究 II. 鋅離子對核酸的沉淀作用 .....李載平 呂新法
- (32) 金屬離子與核酸的相互作用 III. 銅離子與核酸結合作用的研究.....景沛
- (33) 蛋白二硫還原酶的提純和性質的初步研究.....李士謨 趙德臻 朱式玉
- (34) 酰化作用對木瓜蛋白酶活性的影響.....陳同度 周德明
- (35) 广西地區蛇毒生化研究 I. 三种蛇毒三种酶活性的初步觀察.....魏琦 梁熙南 王松江 黎秀芳
- (36) 綠豆種子蛋白酶的研究.....朱德煦 蔡幼民

- (37) 木瓜蛋白酶的研究 IV. 活性中心組氨酸殘基的羧甲基化..... 孫玉琨 鄒承魯
- (38) 琥珀酸脫氫酶異咯嗪輔基與酶胱的連接..... 戚德芳 王應暉 鄒承魯 方宇忠 俞家華
- (39) 綠豆中兩種胰蛋白酶抑制劑的提取、結晶與活力測定..... 顧賢銘 戚正武
- (40) 猪羊胰臟中若干蛋白水解酶的提取、結晶與鉴定..... 戚正武 吳克佐 許實榮
- (41) 蛋白質功能基團的改變與其生活力的關係 II. 胰蛋白酶的硫硫鍵與其活力的關係..... 許根俊 鄒承魯
- (42) 蛋白質功能基團的改變與生物活力的關係 III. P-硝基-W-溴代苯乙酮對某些蛋白質活力的影響..... 鄒承魯 孫玉琨 許根俊 杜雨蒼
- (43) 醛縮酶的活性中心..... 伍欽榮 时婉勤
- (44) 牛脾酶制剂催化白氨酸酰胺聚合作用的初步研究..... 孫玉琨 黃祥英
- (45) 抑制劑影響生成酶酰化物為中間物系統的動力學..... 許根俊 鄒承魯
- (46) 家蚕和野蚕的轉氨酶及酰胺酶的比較研究以及蓖麻蟲絲腺體支鏈氨基酸-谷氨酸轉氨酶和天門冬酰胺酶的提取及其性質..... 許延森 劉靜如 唐梓進
- (47) 光合磷酸化的研究 VI. 2,6-二氯酚吲哚酚光還原過程中  
有偶聯的磷酸化..... 沈侃懋 楊善元 沈允綱
- (48) 氧化磷酸化作用解偶聯劑 2,4-二硝基苯酚對線粒體中琥珀酸  
氧化的激活和抑制..... 林其誰 伍欽榮
- (49) 肝線粒體琥珀酸氧化機制的研究..... 敖世洲 張友端
- (50) 生物化學反饋反應的研究 一、動力學的特性..... 徐京華 郁賢章
- (51) 餓餓大白鼠肝腦的谷氨酸代謝..... 李芳生 徐洵
- (52) 初生大白鼠及成鼠肝腦中谷氨酸氧化酶系的對比研  
究..... 李芳生 徐洵
- (53) 偶氮染料對大鼠肝色氨酸吡咯酶底物誘導的影響及其機制的  
研究..... 李士謬 譚潤生 賈錫安
- (54) 氯仿中毒對大鼠肝膽酪氨酸氧化酶系的影響..... 王忠炎
- (55) 缺氧状态下小鼠及大鼠脑中氨基转移酶及乳酸的一些變  
化..... 王鏡岩 劉展環 包永德
- (56) 大白鼠在組織缺氧状态下大脑皮层不同层內乳酸的积累過  
程..... 王鏡岩

- (57) 生活在低温下大鼠肌肉線粒体氧化磷酸化的研究.....于树玉 沈翔琪 姜明軒 王世族 李士謙
- (58) 谷氨酸发酵菌——2990-6号的代謝 一、葡萄糖的降解途径.....余微明 杨常仁 周光宇
- (59) 谷氨酸发酵菌——2990-6号的代謝 二、三羧循環.....龔葵葵 周光宇
- (60) 谷氨酸发酵菌——2990-6号的代謝 三、天门冬氨酸酶与谷氨酸发酵.....陈立群 周光宇
- (61) 谷氨酸发酵菌——2990-6号的代謝 四、还原型烟酰胺核苷酸的氧化.....曾以申 周光宇
- (62) 2990-6号菌的己糖激酶 .....杨建中 周光宇
- (63) 白地霉的戊糖代謝 2. 木糖与葡萄糖培养菌株糖代謝的比較.....杨康婉 方一澄 张树政
- (64) 白地霉細胞中甘露醇的鉴定及其形成机制的研究.....张树政 黎膏翔
- (65) 白地霉(*Geotrichum candidum*)对各种碳源的氧化作用.....簡浩然 丁达明 曾云添 卓中其
- (66) 病毒侵染与寄主植物代謝关系的初步研究.....湯佩松 田 波
- (67) 莨麻蚕核型多角体病毒的研究 I. 形态及其他性质的观察  
II. 包含体酸碱溶化曲线.....匡达人 連秉鈞 王应魁 金心梅 刘蓮英
- (68) 几个烟草花叶病毒毒株的化学和物理化学的比較研究.....张友尚 裴美云 曹天欽 周家熾
- (69) 氢化可的松的微生物氧化.....张丽青
- (70) 細菌 A-3 对几种烃类化合物的氧化性能 .....王大琛 汪 鼓
- (71) 石蜡油的細菌氧化产物三种高級脂肪酸的初步研究.....黃敬堅 王大琛 周 乐 汪 鼓
- (72)  $\beta$ -二萘二醜对胺类的催化氧化的初步报告.....汪 鼓 黃敬堅 杨渊珠 陈增寿 王大琛
- (73) 人工肝脏功能障碍动物的精氨酸負荷試驗的研究.....单鴻仁 康效岩 史爱芬
- (74) 关于血中恶性磷脂作为癌肿早期診断的評价.....林文光 刘友尧 吳瑞榮 李光展
- (75) 老范志神曲生化学的研究報告 I. 糖化力的研究.....林公际 林文光
- (76) 艾氏腹水癌小白鼠蛋白质和核酸含量的研究.....方 丁
- (77) 克山病的临床酶学考察 (一)血清銅氧化酶

- (Ceruloplasmin) ..... 刘瑞玲 杨同书 朱育惠
- (78) 克山病的临床酶学考察 (二)血清谷草轉氨酶  
(S. GOT) ..... 赵嵐勤 杨同书 朱育惠
- (79) 克山病的临床酶学考察 (三)血清醛縮酶  
(S. ALD) ..... 毛运宜 杨同书 朱育惠
- (80) 克山病的临床酶学考察 (四)血液碳酸酐  
酶 ..... 张行海 杨同书 朱育惠
- (81) 克山病的临床酶学考察 (五)克山病的血液酶譜  
(Enzymogram) ..... 杨同书 朱育惠
- (82) 克山病的临床酶学考察 (六)血液酶譜变动的机  
制 ..... 杨同书 朱育惠
- (83) 关于营养性水肿病患者的临床生化研  
究 ..... 任邦哲 芦义欽 朱定尔 奉騰蛟 吳若鉢 文震西
- (84) 抗肿瘤药对核酸代謝的影响 I. N-甲酰溶肉瘤素、谷氨酰  
溶肉瘤素对动物移植性肿瘤及正常組織中核酸的含量的影  
响 ..... 王振綱 籍秀娟 韓 銳 范礼理
- (85) 抗肿瘤药对核酸代謝的影响 II. N-甲酰溶肉瘤素、谷氨  
酰溶肉瘤素对  $P^{32}$  参入动物移植性肿瘤及正常組織核酸  
的影响 ..... 籍秀娟 王振綱 韓 銳
- (86) 食管癌病人血尿若干生化值的分  
析 ..... 苗 健 陈本懋 关 力 油书恒 丘苏吾 杨云虹
- (87) 针刺足三里对尿中 17-羟皮质类固醇含量的影  
响 ..... 万毓先 张德琇 蔣 澄
- (88) 癌肿病人的末梢血液过氧化氢酶 ..... 李 英 沈奇桂
- (89) 抗日本住血吸虫新药 F-30066 的生化研究 I. F-30066 与  
谷胱甘肽及蛋白质巯基的作用 ..... 邵靖宇 林茂芳 湯海祥
- (90) 抗日本住血吸虫新药 F-30066 的生化研究 II. F-30066 对  
糖酵解的影响 ..... 邵靖宇 林茂芳
- (91) 抗日本住血吸虫新药 F-30066 的生化研究 III. F-30066 对  
尿素合成的影响 ..... 李 英 儲 范 湯海祥
- (92) 抗日本住血吸虫新药 F-30066 的生化研究 IV. F-30066 对  
肝匀浆氧化磷酸化作用的影响 ..... 李 英 刘子貽 王水珍
- (93) 抗肿瘤药的研究 IV. 抗肿瘤药对瘤細胞呼吸及酵解的  
影响 ..... 韩 銳 雷海鵬
- (94) 正常人血清脂蛋白及其分子中胆固醇和磷脂的含量与比

- 值 ..... 杨可莹 王金荣 高玉印 袁必遂 魏春軒
- (95) 我国正常人血清胆碱酯酶活力的測定 ..... 李增烈
- (96) 高血压患者及經气功药物綜合治疗前后血清脂蛋白及胆碱酯酶活力的观察 ..... 杨可莹 袁必遂 魏春軒 王金荣
- (97) 皮质醇对肝脏中谷-丙轉氨基酶作用的研究 ..... 李韵笙 朱伯明 陈明壁
- (98) 利用放射性  $P^{32}$  研究以皮质素誘导大鼠肝色氨酸吡咯酶时肝中酸溶性磷酸化合物变化的初步报导 ..... 吳文俊 指導人: 張惠珠
- (99) 大白鼠注射皮质素后肝糖元异生作用和組織谷丙轉氨酶活力的关系 ..... 潘碧霞 指導人: 張惠珠
- (100) 应用  $S^{35}$ - 甲硫氨酸探討晚期血吸虫病低清蛋白血症的形成机制 ..... 何开玲 呂懿娟 邵光第 李亮
- (101) 腹水癌線粒体有氧情况下对酵解的抑制作用 ..... 李文裕 錢若兰 胡兆庆
- (102) 关系肿瘤“恶性磷脂”的探討 ..... 胡兆庆 李文裕
- (103) 艾氏腹水肿瘤細胞線粒体能量利用的局部化 ..... 杜錦珠 李瀟 伍欽榮
- (104) 肝癌病人尿液中特殊紫外光吸收物质的研究 ..... 王昌材 孙册
- (105) 腎虛病人尿中 17-羥类固醇排泄量改变的觀察 ..... 顾天爵 张丽丽 沈自尹 李亮
- (106) 腎虛病人的能量代謝研究 I. 腎虛病人之基础代謝与紅血球中糖的分解代謝 ..... 何开玲 李亮 黃华樓 沈自尹 肖能惠 姜惠馨 林茂芳 高益芝
- (107) 腎虛病人的能量代謝研究 II. 促腎上腺皮質激素对紅血球代謝影响 ..... 何开玲 李亮 张丽丽 陈惠黎
- (108) 脱氧核糖核蛋白中脱氧核糖核酸輻射损伤的剂量曲线 ..... 吳蔚 吳祖泽
- (109)  $Co^{60} \gamma$  線致死剂量照射对豚鼠、大鼠、脾肝戊糖代謝的影响 ..... 黃如衡 王培仁
- (110) 降低体温和X線照射对大白鼠肝、脾和十二指肠磷浓度和磷更新率的影响 ..... 胡美浩 王素云 李芬芬 高天礼 李建武
- (111) X射線对小家鼠雄性生殖細胞作用的电子显微鏡与組織化学观察 ..... 霍中和
- (112) 电离辐射对大鼠肝 nRNA 代謝的影响 I.  $Co^{60}$  外照射对大鼠肝 nRNA 含量的影响 ..... 杨泽田 李恒泽 王成沛

- (113) 酵母菌过氧化氢酶含量与其辐射损伤的关系..... 万芷芳 陈苏民 苏成芝  
 (114) X-射线对小牛胸腺 DNA 的隐藏破坏作用 II. 射线导致的氢键不稳定性..... 李载平 錢肖貞 景沛  
 (115) 整体X-射线照射对大白鼠胸腺核蛋白(DNP)的影响..... 张永蓮 张友端

中科院植物所图书馆



S0014702

11

6516090

58.173

178

洪紙庫 八四六四月二日

29年12月 165+9-3

李良鑑 1955年12月12日

尾

1955年12月24日

58.173

178

6516090

28.65

## 注 意

1. 借书到期請即送还。
2. 請勿在书上批改圈点、折角。
3. 借去图书如有污損遺失等情形須照价赔偿。

统一书号 13119 · 641  
定 价 1.80 元